

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА  
МІНІСТЕРСТВО НАУКИ І ВИЩОЇ ОСВІТИ ПОЛЬЩІ  
ПОМОРСЬКА АКАДЕМІЯ В СЛУПСЬКУ  
FRIENDS OF LVIV UNIVERSITY, INC., USA

# МОЛОДЬ І ПОСТУП БІОЛОГІЇ

XVI МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ  
СТУДЕНТІВ І АСПІРАНТІВ  
присвячена 75 річниці створення біологічного факультету  
та 90 річниці від дня народження М. Деркача  
(Львів, 27 – 29 квітня 2020)

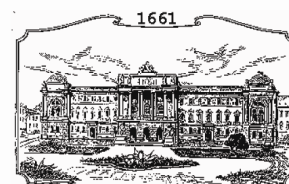
## ЗБІРНИК ТЕЗ



Львівський національний  
університет імені Івана  
Франка



Біологічний факультет  
Львівського національного  
університету імені Івана Франка



Friends of Lviv University,  
Inc., USA



Українське біофізичне  
товариство



Українське фізіологічне  
товариство ім. П.Костюка



Instytut Biologii  
i Ochrony Środowiska  
Поморська Академія в  
Слупську, Польща



Львівська  
міська рада



MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE  
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV  
MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION OF REPUBLIC OF POLAND  
POMERANIAN UNIVERSITY IN SLUPSK  
FRIENDS OF LVIV UNIVERSITY, INC., USA

# YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY

XVI INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE  
FOR STUDENTS AND PHD STUDENTS  
dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Ivan Franko national  
university of Lviv and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach  
(LVIV, APRIL 27-29, 2020)

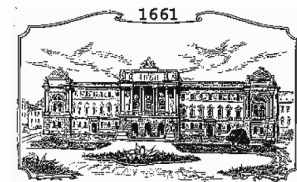
## ABSTRACTS



Ivan Franko National  
University of Lviv



Faculty of Biology of Ivan Franko  
National University of Lviv



Friends of Lviv University,  
Inc., USA



Ukrainian Biophysical  
Society



Ukrainian Physiological Society



Instytut Biologii  
i Ochrony Środowiska  
Pomeranian University in  
Slupsk, Poland



Lviv city  
council



УДК 57(043.2)

M75

**Молодь і поступ біології:** збірник тез доповідей XVI Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів, присвяченої 75 річниці створення біологічного факультету Львівського національного університету ім. І. Франка та 90 річниці від дня народження проф. М.П. Деркача (м. Львів, 27–29 квітня 2020 р.). – Львів, 2020. – 222 с.

Збірник тез доповідей містить результати наукової роботи студентів і аспірантів України та зарубіжжя. За достовірність викладених наукових даних і текст відповідальність несуть автори.

Для наукових працівників, аспірантів, студентів, що працюють у галузі біології, екології, біотехнології та біомедицини.

*Організатори конференції висловлюють подяку за підтримку програмі «Львів науковий», Українсько-американському добродійному фонду «Сейбр-Світло» та ТзОВ «Експлоджен».*

**Редакційна колегія:** Тарновська А. В., Генега А. Б., Гончаренко В. І., Хамар І. С., Демчук В. Л., Ткаченко Г., Галушка А., Дзидзан О., Кармаш О., Попович М., Андрійчук Р., Кужик Ю., Марців М., Поліщук О., Фецох А., Макар О., Руда О.

**Науковий комітет:** проф. Бабський А. М., проф. Гнатуш С. О., доц. Гончаренко В. І., доц. Мамчур З. І., проф. Манько В. В., проф. Сибірна Н. О., проф. Терек О. І., проф. Федоренко В. О., проф. Царик Й. В., проф. Осадовський З.

**Youth and Progress of Biology:** Abstracts of XVI International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Ivan Franko national university of Lviv and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach (Lviv, April 27–29, 2020). – Lviv, 2020. – 222 p.

Abstracts contain the results of scientific work of students and PhD students from Ukraine and other countries. The authors are responsible for the text and trustworthiness of scientific results.

For scientists, PhD students and students, which work in the field of biology, biotechnology and biomedicine.

*The Organizers of the Conference are grateful for the support to program “Lviv Scientific”, Ukrainian-American beneficial foundation «Seibr-Svitlo» and TzOV “Explogen”.*

**Editorial board:** Tarnovska A., Heneha A., Honcharenko V., Khamar I., Demchuk V, Tkachenko G., Halushka A., Dzydzan O., Karmash O., Popovych M., Andreychuk R., Kuzhyk Y, M. Martsiv, Polischuk O., Fetsiukh A., Makar O., Ruda O.

**Scientific committee:** prof. Babsky A. M., prof. Hnatysh S. O., ass. prof. Honcharenko V. I., ass. prof. Mamchur Z. I., prof. Manko V. V., prof. Sybirna N. O., prof. Terek O. I., prof. Fedorenko V. O., prof. Tsaryk Y. V., prof. Osadowski Z.

© Львівський національний університет імені Івана Франка, 2020

© Поморська академія в Слупську, 2020

© Friends of Lviv University, Inc., USA, 2020

© Ivan Franko National University of Lviv, 2020

© Pomeranian University in Slupsk, 2020

© Friends of Lviv University, Inc., USA, 2020

ISBN 978-617-642-1

### **Голова оргкомітету конференції**

Гладишевський Р. член-кор. НАН України, професор, проректор з наукової роботи Львівського національного університету імені Івана Франка

### **Співголова оргкомітету конференції**

Осадовський З. професор, доктор, ректор Поморської академії в Слупську

### **Оргкомітет**

Хамар І. заступник голови оргкомітету, доцент, декан біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка

Яросевич А. професор, директор Інституту біології і наук про Землю Поморської Академії в Слупську

Гончаренко В. доцент, завідувач кафедри ботаніки, заступник декана біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка з навчально-методичної роботи

Мерлавський В. доцент кафедри фізіології людини і тварин, заступник декана біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка з наукової роботи

Тарновська А. доцент, доцент кафедри біофізики та біоінформатики, заступник декана біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка з виховної роботи

Кметь В. доцент, директор Наукової бібліотеки Львівського національного університету імені Івана Франка

### **Науковий комітет**

Бабський А. доктор біологічних наук, завідувач кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка

Гнатуш С. професор, завідувач кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка

Мамчур З. доцент, завідувач кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка

Манько В. професор, доктор біологічних наук, завідувач кафедри фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка

Сибірна Н. професор, доктор біологічних наук, завідувач кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка

Гончаренко В. доцент, завідувач кафедри ботаніки, заступник декана біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка з навчально-методичної роботи

Терек О. професор, доктор біологічних наук, завідувач кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка

Федоренко В. професор, доктор біологічних наук, завідувач кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка

Царик Й. професор, доктор біологічних наук, завідувач кафедри зоології Львівського національного університету імені Івана Франка

Ткаченко Г. професор, завідувач кафедри біології, заступник директора Інституту біології і наук про Землю Поморської Академії в Слупську

### **Секретаріат**

Тарновська А. голова секретаріату, доцент, доцент кафедри біофізики та біоінформатики, заступник декана біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка з виховної роботи

Генег А. к.б.н., завідувач навчально-методичної лабораторії вивчення біорізноманіття

Семочко О. к.б.н., завідувач міжкафедральної навчальної лабораторії математичних методів у біології

Яремчук М. к.б.н., інженер міжкафедральної навчальної лабораторії математичних методів у біології

Попович М. аспірант кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка

Галушка А. доцент кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка

Поліщук О. аспірант кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка

Руда О. аспірант кафедри фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка

Дзидзан О. аспірант кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка

Кармаш О. аспірант кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка

Андрійчук Р. аспірант кафедри ботаніки Львівського національного університету імені Івана Франка

Фецюх А. аспірант кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка

Макар О. аспірант кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка

Кужик Ю. аспірант кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка

Марців М. аспірант кафедри зоології Львівського національного університету імені Івана Франка

Демчук В. інженер лабораторії мережних технологій Львівського національного університету імені Івана Франка

**Head of the Organizing Committee**

Gladyshevskii R. corresponding member of NAS Ukraine, professor, vice-rector in the scientific work of Ivan Franko National University of Lviv

**Co-head of the Organizing Committee**

Osadowski Z. professor, dr hab., rector of Pomeranian University in Slupsk

**Organizing Committee**

Khamar I. Vice-head of the Organizing Committee, associate professor, dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University of Lviv

Jaroszewicz A. professor, director of the Institute of Biology and Environmental Protection of Pomeranian University in Slupsk

Honcharenko V. associate professor, associate professor at the Department of Botany, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University in educational and methodical work

Merlavsky V. associate professor at the Department of Human and Animal Physiology of Ivan Franko National University of Lviv vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University of Lviv in scientific work

Tarnovska A. associate professor, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatics, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko in educational work

Kmet V. associate professor, director of Scientific Library of Ivan Franko National University of Lviv

**Scientific Committee**

Babsky A. doctor of biological sciences, head of the Department of Biophysics and Bioinformatics of Ivan Franko National University of Lviv

Hnatush S. professor, head of the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv

Mamchur Z. associate professor, head of the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv

Manko V. professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Human and Animal Physiology of Ivan Franko National University of Lviv

Sybirna N. professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv

Honcharenko V. associate professor, associate professor at the Department of Botany, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University

Terek O. professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Plants Physiology and Ecology of Ivan Franko National University of Lviv

Fedorenko V. professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Genetics and Biotechnology of Ivan Franko National University of Lviv

Tsaryk Y. professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Zoology of Ivan Franko National University of Lviv

Tkachenko H. associate professor, associate professor of the Department of Zoology and Animals Physiology of Pomeranian University in Slupsk

**Secretariate**

Tarnovska A. head of the secretariat, associate professor, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatics, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko

Heneha A. PhD Manager of the Interdepartmental Biodiversity Studies Laboratory at National University of Ivan Franko

Semochko O. PhD Manager of the Interdepartmental Mathematical methods in Biology Laboratory at National University of Ivan Franko;

Yaremchuk M. PhD Engineer of the Interdepartmental Mathematical methods in Biology Laboratory at National University of Ivan Franko

Popovych M. PhD student at the Department of Biophysics and Bioinformatics of Ivan Franko National University of Lviv

Halushka A. associate professor, associate professor at the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv

Polischuk O. PhD student at the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv

Ruda O. PhD student at the Department of Human and Animals Physiology of Ivan Franko National University of Lviv

Dzydzan O. PhD student at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv

Karmash O. PhD student at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv

Andreychuk R., Fetsiukh A., PhD student at the Department of Botany of Ivan Franko National University of Lviv

Makar O., PhD student at the Department of Plants Physiology and Ecology of Ivan Franko National University of Lviv

Kuzhyk Y. PhD student at the Department of Genetics and Biotechnology of Ivan Franko National University of Lviv

Martsiv M. PhD student at the Department of Zoology of Ivan Franko National University of Lviv

Demchuk V. engineer at the Laboratory of Network Technologies of Ivan Franko National University of Lviv

## **ЗМІСТ**

ПЛЕНАРНІ ЛЕКЦІЇ	7
БІОФІЗИКА	12
БІОХІМІЯ	24
БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН	49
ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ	68
ЕКОЛОГІЯ	95
ЗООЛОГІЯ	114
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ	25
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ	135
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА	172
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	205
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК	213

## **CONTENTS**

PLENARY LECTURES	7
BIOPHYSICS	12
BIOCHEMISTRY	24
BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION	49
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY	68
ECOLOGY	95
ZOOLOGY	114
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY	125
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY	135
HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE	172
PLANTS PHYSIOLOGY	205
INDEX OF AUTHORS	213

**ПЛЕНАРНІ ЛЕКЦІЇ / PLENARY LECTURES****Дикий І.****КОМПЛЕКСНІ БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ НА  
«УКРАЇНСЬКІЙ АНТАРКТИЧНІЙ СТАНЦІЇ АКАДЕМІК ВЕРНАДСЬКИЙ»***Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна**e-mail: i.dykyu@gmail.com*

**Dykyu I. COMPLEX BIOLOGICAL RESEARCH AT UKRAINIAN ANTARCTIC STATION ACADEMIC VERNADSKY.** The Antarctic ecosystem is an indicator of the whole planet's ecosystem. It is rapidly changing relating to global warming. Coenoses changing, especially tundra, will case to zoocenoses changes on every level in a global scale. These processes will need complex research of ecosystem of the Argentine Islands archipelago. Here we have detained and preliminary results of biological investigations at the Vernadsky Ukrainian Antarctic Base.

Антарктична екосистема є своєрідним індикатором стану екосистеми планети в цілому. В наслідок природного процесу глобального потепління на Землі, потужним каталізатором якого є антропогенний чинник, швидкими темпами змінюється і екосистема Антарктики. Катастрофічне зменшення снігового та льодового покриву Антарктиди, призводить до відкриття нових ділянок суші, на які проникають нижчі рослини (водорості, мохи, лишайники), створюючи передумови для проникнення вищих рослин, які суттєво змінюють антарктичний біогеоценоз. Не менш важливу роль у формуванні антарктичної тундри відіграють хребетні тварини, а зокрема, птахи, які не лише здатні шляхом зоохорії переносити насіння рослин, а й беруть активну участь у формуванні ґрунтового покриву на відкритих від снігу ділянках. Зміни ценозів, а саме проникнення антарктичної тундри призведуть до змін зооценозів на усіх рівнях в глобальному масштабі. Зміни торкаються як фауни безхребетних так і хребетних тварин. Саме ці процеси вимагають комплексного підходу, щодо вивчення екосистеми архіпелагу Аргентинські острови. У зв'язку з цим, виникла необхідність комплексних біологічних досліджень, які розпочалися з 24-ї української антарктичної експедиції в сезоні 2019/20 рр. Зокрема, розпочато дослідження вмісту мікропластику у воді та донних відкладах в районі станції, щоб з'ясувати масштаби пластикового забруднення в Південному океані. Визначення нових видів організмів в океані з допомогою спеціального аналізу за «екологічною» ДНК. Це дасть змогу сучасним методом дізнатися про раніше невідомі науковцям види тварин, які проживають в глибинах океану поруч зі станцією за залишками їхньої ДНК (частинки луски, шкіри продуктів життєдіяльності) у воді. Зараз проводиться визначення і опис глибоководних представників морських організмів відібраних з глибини 280 м. Вивчення складу мікробних угруповань у антарктичних ґрунтах та айсбергах. Що дасть змогу встановити унікальні гени пристосування до екстремальних умов Антарктиди. Проведення аналізу вмісту хімічних забрудників у тканинах риб, моллюсків та китів. Вперше розпочато відбір біопсії на ДНК аналіз китоподібних з акваторії нашої станції (включаючи зимовий період !). Це дасть змогу здійснити дослідження популяційної генетики, а також визначити шляхи переносу хімічних забрудників між континентами. Біопсія відбирається під час виконання фотографування китів з метою фотоідентифікації. Започатковано і впорядковано фотоідентифікаційні каталоги хвостів китів та рисунків на череві тюленів Ведделла. Це дозволяє визначити шляхи їх міграцій заради збереження цих ендемічних видів. Для виконання досліджень популяційної генетики та трофіки тюленів за допомогою молекулярно-генетичних методів, проводиться збір та аналіз екскрементів усіх видів ластоногих.

Важливими дослідження і вирішення проблеми комплексного підходу досліджень залежності популяцій криля від просторового розподілу основних споживачів криля (пінгвінів), щоб зрозуміти просторовий розподіл пінгвінів в період промислу криля. Аналіз використання оселищ пінгвінів в районі станції є важливим для поліпшення оцінок вимог до середовища проживання тварин-споживачів криля і потенційного перекриття їхніх оселищ з важливими районами промислу криля. Задля цього біологами вже 5-ть років поспіль здійснюється щорічний моніторинг за успішністю розмноження та створенням нових гніздових колоній антарктичних видів пінгвінів за допомогою спеціальних стаціонарних фотокамер, які дозволяють стежити за колоніями впродовж року на важкодоступних для зимівників ділянках островів. Це дає змогу оцінити вченим біологічні ресурси Південного океану, так як пінгвіни є індикаторами антарктичної креветки-криля, який виловлюється людиною в промислових масштабах.

Започатковані комплексні дослідження мікробіоти та безхребетних морських, прісноводних та наземних екосистем архіпелагу. Проведення річних спостережень угруповань бактеріо- та віріопланктону в акваторії о. Галіндез з метою оцінки їх динаміки під впливом кліматичних змін у регіоні. Здійснення щомісячного відбору зразків для аналізу віріо-, фіто-, а також гідрохімічних показників. Розпочато збір та ґрунтовний аналіз гідробіонтів прісних водойм островів архіпелагу, з метою з'ясування фауністичного біорізноманіття безхребетних та виявлення крайових ділянок ареалів різних видів та динаміки їхніх змін внаслідок впливу як кліматичних умов, так і антропогенного фактору. Вперше для даного регіону, окрім вже відомих представників ракоподібних *Brachinecta granulose* та *Boeckella poppei*, під час дослідження прісноводних водойм, підльодовикових озер острова Галіндез знайдено нові види прісноводної фауни безхребетних. Зокрема, попередньо виявлено

представники бделоїдних та моноганонтичних коловерток, веслоногі ракоподібні ряду Harpacticoida (в тому числі і троглобіонти) та єдиний екземпляр гіллястувусого ракоподібного роду *Bosmina* у підльодовиковому озері та в тріщині водойми льодовикової печери виявлені представники трьох родів бделоїдних коловерток. Зараз матеріал на стадії визначення.

Проводяться дослідження «квітвання» унікальної рослини, яка виживає в екстремальних умовах Антарктиди – щучки антарктичної (*Deschampsia antarctica*). Вимірювання біометричних та геоботанічних параметрів адаптивності, збір матеріалу для цито-генетичного та молекулярно-генетичного дослідження. Вперше використано цифрові дата-логери для вимірювання показників мікроклімату: температури та освітленості протягом літнього антарктичного сезону з метою побудови кореляційної моделі показників адаптивності та кліматичних чинників цього індикаторного злаку. Здійснюється моніторинг її експансії на антарктичних островах з допомогою переносу насіння морськими птахами на відкриті від снігу ділянках суходолу, у зв'язку зі зміною клімату. Що призводить до формування нового біому – антарктичної тундри.

Отже, сьогодні в планах перетворення острова Галіндез, де розташована єдина українська антарктична станція «Академік Вернадський» на постійну екологічну «лабораторію», де одночасно за багатьма параметрами визначатиметься реакція антарктичної екосистеми на зміни клімату.

### Medina I.

#### CATION-CHLORIDE COTRANSPORTERS: ENERGY DEPENDENCE AND CRITICAL ROLE IN FORMATION OF NEUROLOGICAL DISORDERS.

*Aix- Marseille University UMR 1249, INMED, INSERM  
Marseille, France*

The cation chloride cotransporter family (CCCs) consists of electroneutral secondary active cotransporters that mediate the symport of cations ( $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ ) and chloride ions ( $\text{Cl}^-$ ) across the plasma membrane and strongly contribute to control of the cell volume and ion concentrations. In neurons two members of CCC family, KCC2 and NKCC1 are involved in the development and maintenance of inhibitory neurotransmission by controlling intracellular  $\text{Cl}^-$  concentration ( $[\text{Cl}^-]_i$ ) required for fast inhibitory neurotransmission. The physiological relevance of the two cotransporters is corroborated by the phenotypes present in knockout mice. Mice with disruption of the gene *Slc12a5* encoding both KCC2 isoforms (KCC2a and KCC2b), die shortly after birth due to motor deficits. Furthermore, dysfunction of KCC2 is associated with neurological and psychiatric disorders including epilepsy, neuropathic pain, spasticity, ischemic insults, brain trauma, schizophrenia, and autism. Mice with disruption of *Slc12a2* (NKCC1) are viable, but suffer from peripheral deafness, postnatal hyperexcitability and anti-convulsant, pain perception and male infertility. Inhibition of KCC2 promotes formation of pathological conditions whereas inhibition of NKCC1 seems to prevent or at least alleviate pathological phenotypes. This renders both transporters a prime pharmacotherapeutic target and fosters interest in understanding posttranslational mechanisms of their regulation.

Here I will provide a brief overview on properties of CCCs family members and present our recent findings on molecular mechanisms controlling KCC2 and NKCC1 activities with perspective of development new therapeutic treatments.

### Rebets Y.<sup>1,2</sup>, Luzhetskyy A.<sup>1</sup>

#### CONSTRUCTION AND TUNING OF TRANSCRIPTION FACTOR BASED BIOSENSORS

<sup>1</sup> *University of Saarland, Campus, Bld. C2 3, Saarbrücken, 66123, Germany*

<sup>2</sup> *Explogen, Zelena str. 20, L'viv, 79005, Ukraine*

*e-mail: info@explogen.com.ua*

Transcription factors are group of proteins present in all Kingdoms of Life. They are DNA-binding proteins that control gene expression in response to internal or external stimuli. In case of bacteria, transcription factors allow properly react and adapt to environmental stressors by changing genes expression. Understanding of functional features of bacterial transcription factors can be converted into biological devices sensing small molecules, including antibiotics.

Here we present the use of TetR family transcription factor PamR2 from *Streptomyces alboniger* to construct biological sensor device for detecting unusual polyketide antibiotic pamamycin. The understanding of structural and functional features of PamR2 allowed tuning the biosensor toward higher specificity and broader dynamic range by changing the regulatory part and mutating the PamR2 protein. This work led to development of basic rules that should be considered when constructing transcription factor-based biosensors. Finally, the design principles for hybrid transcription factors and their utilization in screening for antibiotics will be discussed.



Szmyjda S.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>1</sup>, Osmólska U.<sup>1,2</sup>, Pyżuk Z.<sup>3</sup>

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

<sup>1</sup>*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

<sup>2</sup>*Non-public Health Care Center U & O Zdrowie – Home-based long-term care  
Sosabowski Str. 12, 84-300 Łębork, Poland*

<sup>3</sup>*Clinic of Anesthesiology and Intensive Care  
Independent Public Clinical Hospital no. 1 of Pomeranian Medical University in Szczecin  
Unii Lubelskiej Str. 1, 71-252 Szczecin  
e-mail: sebastian.szmyjda@gmail.com; tkachenko@apsl.edu.pl*

Diabetes mellitus is one of the most important problems in the context of public health. Year by year, the number of new cases is increasing. According to the International Diabetes Federation (IDF, 2019) data there were ca. 30 million diabetics in the world in the 1980s, while today approximately 463 million adults (20-79 years) are living with diabetes. By 2045 this will rise to 700 million (Cho et al., 2015).

Type 2 diabetes mellitus (T2D) is a disease that currently affects ~8% of the adult population worldwide (Gerber and Rutter, 2017). Uncontrolled chronic hyperglycemia is presented by many forms of diabetic complications in several organs as a result of oxidative damage, especially  $\beta$ -cell dysfunction and failure (Wang et al., 2012; Fatani et al., 2016). Diabetes is typically accompanied by increased production of free radicals and/or impaired antioxidant defense capabilities, indicating a central contribution for reactive oxygen species (ROS) in the onset, progression, and pathological consequences of diabetes (Rolo and Palmeira, 2006). The marked increase in ROS production accompanied by a decrease in antioxidant activity causes the structural deterioration of macromolecules (carbohydrates, proteins, lipids, and DNA) leading to their instability and consequently loss of function (Negre-Salvayre et al., 2008).

Hyperglycemia resulting from uncontrolled glucose regulation is widely recognized as the causal link between diabetes and diabetic complications. Long-term hyperglycemia can also increase the generation of proinflammatory cytokines, further impair activation of activated protein kinase and increase apoptosis (Sena et al., 2013; Oh et al., 2017; Gumprecht et al., 2017; Kalbarczyk et al., 2018). Four major molecular mechanisms have been implicated in hyperglycemia-induced tissue damage: activation of protein kinase C (PKC) isoforms *via de novo* synthesis of the lipid second messenger diacylglycerol (DAG), increased hexosamine pathway flux, increased advanced glycation end product (AGE) formation, and increased polyol pathway flux. Hyperglycemia-induced overproduction of superoxide is the causal link between high glucose and the pathways responsible for hyperglycemic damage. Moreover, mutations in mitochondrial DNA (mtDNA) and decreases in mtDNA copy number have been linked to the pathogenesis of type 2 diabetes (Rolo and Palmeira, 2006).

DeFronzo (2009) indicated that eight elements involved in the pathogenesis and development of type 2 diabetes cause hyperglycemia, called by the author “ominous octet”: (1) increased hepatic glucose production (HGP) due to the intensification of gluconeogenesis resulting from the insensitivity of liver tissues to insulin; (2) increase in basal glucagon in patients with type 2 diabetes and the effect of other factors on the increase in the secretion of this hormone by pancreatic  $\alpha$  cells; (3) reduction of insulin secretion by pancreatic  $\beta$  cells; (4) attenuated incretin effect resulting from disorders in incretin secretion: decreased GLP-1 secretion and impairment of GIP, which leads to increased glucagon secretion and HGP suppression disorders; (5) increased lipolysis resulting from the insensitivity of adipocytes to the anti-lipolytic action of insulin, which in turn leads to an increase in serum free fatty acids and lipotoxicity; (6) increased glucose reabsorption in the kidneys due to an increase in SGLT2 transporter concentration and an increase in glucose reabsorption capacity; (7) reduced hepatic and glucose uptake; (8) neurotransmitter dysfunction at appetite regulation centers due to chronic hyperinsulinemia. Also, the development of type 2 diabetes is influenced by eating preferences: eating large amounts of saturated fatty acids, eating foods high in fat, low fiber intake, and excessive consumption of products containing simple sugars as well as too low physical activity (WHO, 2003, 2016; DeFronzo, 2009; Ley et al., 2014).

Increases in biomarkers of oxidative stress-related to lipid peroxidation (2-thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) and protein oxidation together with inhibition of the synthesis of endogenous antioxidants have been observed in several *in vitro* and *in vivo* experimental models of diabetes (Inoguchi et al., 2000; Brownlee, 2001; Cederberg et al., 2001). Previous studies suggest a positive correlation between lipid peroxidation levels and diabetic complications. Lipid peroxidation was higher in T2D than T1D patients, and also higher serum lipid peroxidation levels were observed in patients with complications (Genet et al., 2013).

The current study aimed to assess oxidative stress biomarkers [lipid peroxidation end products – 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS)], derivatives of oxidatively modified proteins (OMP), the total antioxidant capacity (TAC)] in the erythrocytes and plasma of males and females of different age groups (under 45 years old, 46-70 years old, and over the age of 70) with fairly controlled type 2 diabetes mellitus.

A total of 156 patients with type 2 diabetes mellitus between 33 and 98 years old were studied. The participants of the study were recruited among patients of non-public Health Care Center U & O Zdrowie – Home-based long-term care and Diabetological outpatient clinic in Łębork (Poland). A detailed medical history was taken, and a physical examination was performed upon all participants. The Research Ethics Committee of Regional Medical Hospital in

Gdańsk (Poland) approved the study (KB-21/19), by the principles described in the Declaration of Helsinki. All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. The patients were separated into six groups, i.e. the group under the age of 45 (12 females and 6 males), 46-75 years old (44 females and 41 males), and over the age of 76 (35 females and 18 males). Participants included in the current study were selected according to the following criteria: first, they were diagnosed with type 2 diabetes mellitus patient; second, they were free of any ailment which could affect the parameters under study. Hemolytic anemia, hemoglobin variants, hepatic disease, and infectious diseases, such as tuberculosis and sarcoidosis, were excluded from the study.

Blood samples were collected into commercial tubes after overnight fasting for the analysis of laboratory parameters. Venous blood samples (5 mL) were obtained from the capital vein of each participant using sterile disposable plastic syringes. Specimens were collected at the same standardized time to minimize any effect of diurnal variation. The blood samples in the tubes were left to clot and the serum was separated by centrifugation. The clear, non-hemolyzed supernatant sera were separated using clean, dry disposable plastic syringes. Erythrocytes' samples were stored at +4°C and used within 2 days for the analysis of MDA.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyshnikov (2004) method for determining the MDA concentration. This method is based on the reaction of the degradation of the lipid peroxidation product, MDA, with 2-thiobarbituric acid (TBA) under high temperature and acidity to generate a colored adduct that is measured spectrophotometrically. The  $\mu\text{mol per 1 L}$  was calculated using  $1.56 \cdot 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  as the extinction coefficient.

The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNFH) as described by Levine and co-workers (1990) and as modified by Dubinina and co-workers (1995). DNFH was used for determining carbonyl content in soluble and insoluble proteins. Carbonyl groups were determined spectrophotometrically from the difference in absorbance at 370 nm (aldehyde derivatives, OMP<sub>370</sub>) and 430 nm (ketonic derivatives, OMP<sub>430</sub>).

Total Antioxidant Capacity (TAC) level in the sample was estimated by measuring the 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level after Tween 80 oxidation. This level was determined spectrophotometrically at 532 nm (Galaktionova et al., 1998). Sample inhibits the  $\text{Fe}^{2+}$ /ascorbate-induced oxidation of Tween 80, resulting in a decrease in the TBARS level. The level of TAC in the sample (%) was calculated concerning the absorbance of the blank sample.

The mean  $\pm$  S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the total antioxidant capacity level (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Mann-Whitney *U* test and Kruskal-Wallis test by rank (Zar, 1999). All statistical calculations were performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Kraków, Poland).

The erythrocyte TBARS level was highest in the groups under the age of 45 both in males ( $41.54 \pm 2.31 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and females ( $40.05 \pm 3.14 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) compared to the groups 46-75 years old ( $28.71 \pm 1.54 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $29.29 \pm 2.01 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively) and over the age of 76 ( $26.87 \pm 2.06 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $24.97 \pm 2.13 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively). The TBARS level in the groups of females 46-75 years old and over the age of 76 was lower by 26.9% ( $p < 0.05$ ) and by 27.7% ( $p < 0.05$ ) compared to the females under the age of 45, respectively. Reverse data according to the plasma TBARS level was noted. The plasma TBARS level was highest in the groups over the age of 76 both in females ( $13.88 \pm 2.02 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and males ( $11.43 \pm 2.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) compared to the groups 46-75 years old ( $12.07 \pm 1.81 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $7.90 \pm 1.20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively) and under the age of 45 ( $2.17 \pm 0.51 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $3.33 \pm 1.79 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively). The TBARS level in the groups of females 46-75 years old and over the age of 76 was higher 5.6-fold ( $p < 0.05$ ) and 6.4-fold ( $p < 0.05$ ) compared to the females under the age of 45, respectively.

In the erythrocytes, the level of aldehydic and ketonic derivatives of the OMP was higher in the groups of females and males 46-75 years old and over the age of 76 compared to the females and males under the age of 45, respectively. The level of aldehydic derivatives of the OMP in the erythrocytes was higher in the groups of females 46-75 years old (by 24.7%,  $p < 0.05$ ) and over the age of 76 (by 23.7%,  $p < 0.05$ ) compared to the female group under the age of 45. In the male group, the level of aldehydic derivatives of the OMP in the erythrocytes was higher in the groups of 46-75 years old (by 71.3%,  $p < 0.05$ ) and over the age of 76 (by 97.5%,  $p < 0.05$ ) compared to the female group under the age of 45. Moreover, the level of aldehydic derivatives of the OMP in the erythrocytes of males over the age of 76 was higher by 15.3% ( $p < 0.05$ ) compared to the groups of 46-75 years old. Similar results for ketonic derivatives of the OMP in erythrocytes were obtained. The level of ketonic derivatives of the OMP in the erythrocytes was higher in the groups of females 46-75 years old (by 40.2%,  $p < 0.05$ ) and over the age of 76 (by 53.4%,  $p < 0.05$ ) compared to the female group under the age of 45. In the male group, the level of ketonic derivatives of the OMP in the erythrocytes was higher in the groups of 46-75 years old (by 67.9%,  $p < 0.05$ ) and over the age of 76 (by 114%,  $p < 0.05$ ) compared to the male group under the age of 45. Moreover, the level of ketonic derivatives of the OMP in the erythrocytes of males over the age of 76 was higher by 27.5% ( $p < 0.05$ ) compared to the groups of 46-75 years old.

In the plasma, the level of ketonic derivatives of the OMP was higher in the groups of females and males 46-75 years old and over the age of 76 compared to the females and males under the age of 45, respectively. The level of

ketonic derivatives of the OMP in the plasma was higher in the groups of females 46-75 years old (by 30.9%,  $p < 0.05$ ) and over the age of 76 (by 44.3%,  $p < 0.05$ ) compared to the female group under the age of 45. In the male group, the level of ketonic derivatives of the OMP in the plasma was higher in the groups of 46-75 years old (by 20.9%,  $p < 0.05$ ) and over the age of 76 (by 62.9%,  $p < 0.05$ ) compared to the male group under the age of 45. Moreover, the level of ketonic derivatives of the OMP in the plasma of males over the age of 76 was higher by 34.7% ( $p < 0.05$ ) compared to the groups of 46-75 years old.

Total antioxidant capacity (TAC) in the erythrocytes was highest in the groups under the age of 45 both in females ( $64.75 \pm 2.11$  %) and males ( $73.22 \pm 10.81$  %) compared to the groups 46-75 years old ( $58.66 \pm 1.98$  % and  $65.69 \pm 2.06$  %, respectively) and over the age of 76 ( $53.76 \pm 2.37$  % and  $50.6 \pm 2.85$  %, respectively). The TAC level in the groups of females 46-75 years old and over the age of 76 was lower by 9.41% ( $p < 0.05$ ) and by 17% ( $p < 0.05$ ) compared to the females under the age of 45, respectively. The TAC level in the groups of males over the age of 76 was lower by 30.9% ( $p < 0.05$ ) and by 23% ( $p < 0.05$ ) compared to the males under the age of 45 and 46-75 years old, respectively. TAC level in the plasma was significantly higher (by 19.4%,  $p < 0.05$ ) in the females 46-75 years old compared to the group of females under the age of 45.

Advances towards understanding the mechanisms in the oxidative stress described in the literature allowed the identification and use of biomarkers related to its development, as well as to its complications, opening future possibilities for advancement and practical application, including the therapeutic management of this important metabolic disease (Bandeira Sde et al., 2012). The data presented herein strongly suggest the involvement of oxidative stress in the pathophysiology of diabetes and corroborate the protein oxidation, along with lipid peroxidation, as key points in this process, mainly demonstrating that the increased lipid peroxidation level in the plasma presents a close relationship with the high level of the ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in T2D patients over the age of 46, especially with the over the age of 76, irrespective of the high TAC level. In erythrocytes, the increase of the level of the aldehydic and ketonic derivatives OMP correlated with decreased TAC level in T2D patients over the age of 46, especially with the over the age of 76. Thus, the application of oxidative stress biomarkers in diagnosis is essential for a better understanding of the pathogenesis of diseases accompanied by oxidative stress, as well as for the development of new therapeutic approaches.

## БІОФІЗИКА / BIOPHYSICS

**Візічкануч І., Микитин В., Яремчук М., Дика М.**

### КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ ЗАРОДКІВ В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. ЗА ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
tanua-16-08@meta.ua*

**Vizichkanuch I., Mykytyn V., Yaremchuk M., Dyka M.** CORRELATION ANALYSIS BETWEEN PRO-OXIDANT-ANTIOXIDANT PROCESSES OF LOACH EMBRYO (*MISGURNUS FOSSILIS* L.) UNDER THE EFFECT OF ELECTROMAGNETIC RADIATION. It has been established that catalase activity of the loach embryos positively correlates with the activity of the glutathione peroxidase ( $r > 0.9$ ). Activation of the enzyme CAT at all stages of early embryogenesis is positively correlated with an increase of SOD activity ( $r = 0.78$ ). It was also established that there is a negative correlation between  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity and MDA content. Thus, imbalance was found between prooxidant- antioxidant processes and ion transport systems under the influence of electromagnetic radiation.

Мобільні телефони, бездротові системи зв'язку і пристрої є основними техногенними джерелами електромагнітного випромінювання.

Встановлено, що електромагнітне випромінювання викликає різноманітні порушення фізіологічних функцій організму, а також сприяє розвитку оксидативного стресу за рахунок утворення активних форм кисню у тканинах і органах (Okten, 2005; Vodera, 2013). Мета роботи - встановити кореляційні зв'язки між прооксидантно- й антиоксидантною системою та функціонуванням  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази зародкових клітин в'юна за впливу електромагнітного випромінювання.

Дослідження проводили на зародках прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин.

Використовували зародки під час стадій, які відповідають першому (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів), десятому дробленню зиготи (1024 бластомери). Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом первинних продуктів ліпопероксидації – гідропероксидів ліпідів (ГП) (Миرونчик, 1984) та вторинних продуктів ліпопероксидації – ТБК-позитивних продуктів – за інтенсивністю забарвлення кінцевих продуктів ПОЛ із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) (Тимирбулатов, 1981). Активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) та глутатіонпероксидази (ГПО) визначали згідно з методикою (Костюк, 1990; Королюк, 1988; Моин, 1986).

Аналіз одержаних результатів свідчить, що каталазна активність у досліджених зразках зародків в'юна позитивно корелює з активністю ГПО ( $r > 0.9$ ). Адже відомо, що дія цих ензимів спрямована на утилізацію ліпідних гідропероксидів, основних продуктів ПОЛ, що стимулюють вільнорадикальні реакції ліпопероксидації за ланцюговою реакцією. Активація ензиму КАТ на всіх досліджуваних стадіях раннього ембріогенезу в'юна (в нормі) позитивно корелює зі зростанням активності СОД ( $r = 0.78$ ). Але за впливу електромагнітного випромінювання на частотах мобільного зв'язку тривалістю 1, 5, 10 і 20 хв спостерігається обернена залежність між досліджуваними показниками.

Встановлено також наявність негативного кореляційного зв'язку між активністю  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази та вмістом малонового діальдегіду (МДА), адже з отриманого значення коефіцієнта кореляції випливає, що зі збільшенням кількості МДА у клітині активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази знижується.

Отже, у дослідженні виявлено порушення рівноваги між системами транспорту іонів, ПОЛ і АОЗ за впливу електромагнітного випромінювання.

**Грондзаль В.<sup>1</sup>, Гарасим Н.<sup>1</sup>, Боднарчук Н.<sup>1</sup>, Безкоровайний А.<sup>2</sup>, Санагурський Д.<sup>1</sup>**

### ВМІСТ СУПЕРОКСИДНОГО АНІОН-РАДИКАЛА У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ ГІСТАМІНУ ТА КВЕРЦЕТИНУ

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

*<sup>2</sup>Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
golovchak\_nataly@ukr.net*

**Hrondzal V., Harasym N., Bodnarchuk N., Bezkorovayny A., Sanagursky D.** THE CONTENT OF SUPEROXIDIC ANION-RADICAL IN PLASMA OF THE BLOOD RATS FOR EFFECT OF HISTAMINE AND QUERCETIN. Addition of histamine and quercetin to rats blood causes a significant increase the content of superoxide anion radical in plasma. With the action of quercetin, the amount of test product increases dose-dependent. Bioflavonoid at low concentrations enhances, and at high concentrations slows the accumulation of superoxide anion radical against the background of histamine at a minimum concentration compared to samples to which histamine was added at the specified concentration.

Супероксидний аніон-радикал належить до активних форм кисню, який спричиняє ініціацію вільнорадикального окиснення ліпідів і білків (Мусил, 1985).

Відомо, що в організмі людини гістамін синтезується з амінокислоти гістидину під впливом ферменту гістидиндекарбоксилази, накопичуючись насамперед у базофільних гранулоцитах і крові.

Підвищення вмісту гістаміну у крові може відбуватись, якщо вживати їжу, котра містить гістамін та інші аміни у значних кількостях, а також якщо порушені механізми його інактивації (Jutel, 2006). Підвищений вміст гістаміну спричинює патологічні процеси, зокрема, спазм гладких м'язів бронхів.

Флавоноїд кверцетин належить до вітамінних препаратів групи Р. Кверцетин має антиоксидантний, протизапальний ефект завдяки блокаді ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, зниженню синтезу лейкотрієнів, серотоніну й інших медіаторів запалення. Кверцетин також зв'язується з рецепторами естрогенів (Lesser, 2004). Враховуючи позитивну (зокрема, антиоксидантну) дію кверцетину, важливо вивчити його вплив на вміст супероксидного аніон-радикала на тлі впливу гістаміну.

До цільної крові щурів-самців додавали відповідну кількість розчину кверцетину, щоб кінцева концентрація становила 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3 та 5 мМ. У другому випадку до крові додавали розчин гістаміну в концентрації 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ. У третьому випадку до крові додавали і гістамін (у концентрації 0,01; 10 мкМ), і кверцетин (у концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ) у різних можливих комбінаціях. Для аналізу відбирали плазму крові та визначали вміст супероксидного аніон-радикала (Денисенко, 2005).

Встановлено, що вміст супероксидного аніон-радикала зростає прямо пропорційно від 56 до 372 разів за збільшення концентрації кверцетину у плазмі крові щурів. За дії гістаміну вміст супероксидного аніон-радикала також зростає.

Варто відмітити, що гістамін у максимальній досліджуваній концентрації зумовлює найбільш інтенсивне підвищення вмісту супероксидного аніон-радикала.

Нами виявлено, що кверцетин у низьких концентраціях (0,1 і 0,5 мМ) на тлі дії 0,01 мкМ гістаміну інтенсифікує накопичення вмісту супероксидного аніон-радикала у плазмі крові щурів, порівняно зі зразками, до яких додано тільки гістамін відповідної концентрації, що є негативним явищем. Встановлено, що біофлавоноїд у високих концентраціях (3 і 5 мМ) на фоні впливу гістаміну (0,01 мкМ) сповільнює генерацію супероксидного аніон-радикала тільки порівняно з незалежною дією гістаміну. Отже, гістамін і кверцетин, а також поєднана їхня дія зумовлюють інтенсифікацію генерації супероксидного аніон-радикала у плазмі крові щурів.

**Данилюк О.<sup>1</sup>, Бура М.<sup>1</sup>, Мандзинець С.<sup>1</sup>, Батюк Л.<sup>3</sup>, Заїченко О.<sup>2</sup>**

**АНАЛІЗ ЗМІН АКТИВНОСТІ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-АЗИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА  
УПРОДОВЖ ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА НАЯВНОСТІ ПОЛІМЕРНОГО НОСІЯ**

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

<sup>2</sup>Національний університет «Львівська політехніка»  
пл. Св. Юра, 2, м. Львів, 79013, Україна

<sup>3</sup>Харківський національний медичний університет  
просп. Науки, 4, м. Харків, 61022, Україна  
frankyra13@gmail.com

**Danyliuk O., Bura M., Mandzynets S., Batiuk L., Zaichenko O.** THE ANALYSIS OF THE  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ASE ACTIVITY OF LOACH EMBRYOS DURING EMBRYOGENESIS IN THE PRESENCE OF POLYETHYLENE GLYCOL. The use of variance two-factor analysis established that changes in  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP-ase activity are due to the action of the studied PEG and medium pH, and are independent of the time factor.

Полімерні наноносії – одні з найперспективніших у сучасній нанотехнології та фармакології, з цілою низкою специфічних фізико-хімічних і біологічних властивостей, які забезпечують їхню біосумісність, біодеградабельність, додаткову насиченість спеціальними біоелементами, необхідними для доставки фармацевтичних препаратів в організм (Лампрехт, 2010; Heffeter, 2013; Riabtseva, 2012). Встановлено, що лікарські форми, у яких активна діюча речовина кон'югована з полімерним носієм, мають нижчу токсичність, покращені фармакокінетичні параметри і вищу ефективність терапевтичної дії (Heffeter, 2013). До таких носіїв належать фосфатидилхолін, фолієва кислота, а також поліетиленгліколь. Приєднання нейронного поліетиленгліколю підвищує розчинність гідрофобних лікарських засобів, продовжує час циркуляції, мінімізує неспецифічне поглинання, забезпечує конкретне цільове фокусування і тенденцію до акумулювання ліків навіть у тканині пухлини (Лампрехт, 2010; Heffeter, 2013).

Детальний аналіз впливу похідних поліетиленгліколю на процеси ферментативної активності мембран зародкових клітин в'юна *Misgurnus fossilis* L. у період раннього ембріогенезу є актуальним і перспективним, він наблизить розуміння механізмів біологічної дії цих речовин і матиме вагоме значення для фармакології та медицини.

Попередніми дослідженнями (Здвіжков, 2013) встановлено, що <sup>1</sup>VEP-GMA-graft-PEG ( $10^{-6}$ – $10^{-18}$  М) модулює  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азну активність зародків у період раннього ембріогенезу. Провівши аналіз змін

активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази на 6-й годині розвитку за концентрації 1,5 ( $R^2 = 0,75$ ) та 3 ( $R^2 = 0,94$ ) ммоль/л АТФ, встановлено нелінійну залежність кінетики цього ферменту за впливу досліджуваного PEG.

Проведено оцінку впливу різної концентрації поліетиленгліколю на активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази у ранній період розвитку зародків. Підтверджено вагому концентраційну залежність ( $p > 0,99$ ) активності мембранного ферменту від дії полімеру в період дроблення бластомерів. За допомогою дисперсійного аналізу з'ясовано, що концентраційна залежність впливу PEG на різних стадіях розвитку суттєва: дія полімеру не залежить від фактора розвитку, і ця залежність недостовірна.

Для детального з'ясування особливостей впливу новосинтезованого полімеру  ${}^1\text{VEP-GMA-graft-PEG}$  ( $10^{-11}$  М) на активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази зародків досліджено зміни цього ферменту в діапазоні рН середовища 6,5–8,5.

Встановлено (Шеремета, 2018), що досліджуваний модифікований PEG упродовж раннього ембріогенезу за одночасних змін рН середовища інкубації зумовлює виражені зміни  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азної активності зародків.

Використання двофакторного дисперсійного аналізу встановило, що зміни активності ферменту зумовлені дією досліджуваного PEG та рН середовища і не залежать від фактора часу.

**Зоркот Л., Котик О., Котлярова А., Марченко С.**

### ВПЛИВ МІДОКАЛМУ І ДИПРОФОЛУ НА ВИСОКОПРОВІДНІ КАТІОННІ КАНАЛИ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ

*Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України  
вул. Академіка Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна  
lzorkote@gmail.com*

**Zorkot L., Kotyk O., Kotliarova A., Marchenko S.** MIDOCALM AND DIPROFOL IMPACT ON THE LARGE CONDUCTANCE CATION CHANNELS FUNCTIONING IN THE NUCLEAR MEMBRANE. Using patch-clamp technique our group observed that muscle relaxant tolperizon (marketed as mydocalm) causes «flickering» effect in LCC-channels, which indicates mechanical block of the pore in the channel's open state. Both propofol (marketed as diprofol), used as a general anesthetic, and tolperizon caused reduce in probability of channels being in an open state ( $P_o$ ) but had no significant influence on the average current amplitude.

За допомогою методу «*patch-clamp*» у нашій лабораторії зареєстровано струми крізь катіонні канали високої провідності (LCC-канали) ядерної мембрани клітин різного типу, зокрема, нейронів Пуркінє мозочка (Marchenko, 2005), пірамідальних нейронів гіпокампу (Fedorenko, 2014) та кардіоміоцитів (Kotyk, 2016).

На шляху до з'ясування фізіологічної ролі LCC-каналів першим кроком став пошук їхнього блокатора.

Спочатку перевіряли вплив блокаторів  $\text{K}^+$ -каналів, оскільки канал є селективним до одновалентних катіонів, але жоден із них не виявив дії на LCC-канали (Marchenko et al., 2005). Значна дія була спричинена відомим N-холіноблокатором – алкалоїдом d-тубокурарином (Lunko, 2016; Kotyk, 2017), а також дитиліном і атракуріумом (Kotyk, 2017).

N-холіноблокатори часто є діючими речовинами фармакологічних препаратів, котрі застосовують як анестетики та міорелаксанти. Тому мета роботи – дослідити вплив анестетиків мідокалму та дипрофолу на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів.

Дослідження виконано на 3-4-тижневих щурах ліній *Wistar* і *Fisher*. Ізольовані ядра нейронів Пуркінє мозочка та кардіоміоцитів виділяли шляхом гомогенізації, як описано раніше (Marchenko, 2005; Котик, 2018). Струми крізь окремі канали реєстрували за допомогою методу «*patch-clamp*» (конфігурація «*nucleus-attached*»/«*excised patch*») у режимі фіксації потенціалу. Отримані результати проаналізовано за допомогою програми Clampfit 10.3. Вірогідність різниці оцінювали на основі t-критерію Стюдента ( $*P \leq 0,05$ ).

За впливу 2 ммоль/л мідокалму – міорелаксанта центральної дії (діюча речовина толперизон) – середня амплітуда струму лишалася незмінною, але спостерігали ефект “миготіння” каналу (швидкі послідовні закривання та відкривання каналу), а також зменшення ймовірності перебування каналу у відкритому стані ( $P_o$ ) у 2-4 рази ( $n = 3$ ).

Дипрофол (пропофол) – позитивний модулятор інгібіторної функції нейромедіатора ГАМК – у концентрації 0,2–2 ммоль/л зменшував  $P_o$  LCC-каналів ядерної мембрани у два рази ( $P \leq 0,05$ ,  $n = 3$ ), проте не впливав на середню амплітуду струму через них.

Отже, мідокалм і дипрофол зменшують  $P_o$  LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів, не впливаючи при цьому на середню амплітуду струму через них. Мідокалм, як і раніше досліджені ефективні блокатори (тубокурарин, дитилін, атракуріум), у високих концентраціях спричинив ефект “миготіння”, що може свідчити про часткове механічне блокування пори каналу в його відкритому стані.

Найефективнішим блокатором LCC-каналів на сьогодні залишається d-тубокурарин, однак не менш важливою характеристикою блокатора є специфічність, перевірка якої стане наступним етапом нашої роботи. Отримані результати допоможуть ідентифікувати блокатор, придатний для застосування як інструмент у дослідженні фізіологічної ролі LCC-каналів.

**Капран С., Попович М., Шалай Я., Гренюх В., Бабський А.**

**ЗМІНИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ МІТОХОНДРІЙ КЛІТИН ЛІМФОМИ  
ЗА ДІЇ ПОХІДНОГО ТІАЗОЛУ ПІРАЗОЛОПІРИМІДИНУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
solomiyakapran@gmail.com*

**Kapran S., Popovych M., Shalai Ya., Babsky A.** MITOCHONDRIA MEMBRANE CHANGES POTENTIAL IN LYMPHOMA CELLS UNDER THE ACTION OF THE THIAZOLE DERIVATIVE PYRAZOLOPYRIMIDINE. For the first time the mitochondria membrane potential in lymphoma cells has been registered. Protonophor FCCP was used to estimate viability of lymphoma mitochondria. It has been established that the thiazole derivative pyrazolopyrimidine at a concentration of 50  $\mu\text{M}$  decreases membrane potential in inner membrane of mitochondria that indirectly suggests that the mitochondria of lymphoma cells may be involved in the cytotoxic processes toward tumor cells.

Дослідження механізмів модуляції апоптичних шляхів, зокрема, пошкодження внутрішньої мітохондріальної мембрани, є важливими для розробки стратегій лікування неоплазматичних захворювань. Одна зі стратегій боротьби з раком включає сенсibilізацію пухлин до терапії за цілеспрямованого пошкодження мітохондрій.

Раніше встановлено, що досліджуване у роботі похідне тіазолу індукувало апоптоз у пухлинних клітинах (Finiuk et al., 2019), однак не з'ясовано усі деталі механізму реалізації апоптозу за дії досліджуваних похідних.

Важливим показником функціонування мітохондрій є зміни мембранного потенціалу, які можна реєструвати, зокрема, за допомогою флюоресцентної мікроскопії з використанням барвника Rodamin 123.

Мета роботи - дослідити зміни мембранного потенціалу мітохондрій клітин лімфоми за дії похідного тіазолу (8-метил-2-Ме-7-[трифлюорометил-фенілметил]піразоло[4,3-е] [1,3]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-он, ПП2).

Для реєстрації мембранного потенціалу мітохондрій ( $\Delta\psi$ ) використовували інвертований мікроскоп Olympus IX73 із цифровою камерою DP-74 [Шликов, 2014]. До зразків відмитого асцити додавали досліджувану речовину в концентраціях 10 і 50 мкМ та інкубували протягом 15 хв за температури 37 °С. Після цього додавали 20 мкМ родаміну та інкубували ще 15 хв. Краплю суміші наносили на предметне скло та поміщали у мікроскоп за збільшення  $\times 12,6$ . Довільно вибирали п'ять різних варіантів зображень клітин у видимому та флюоресцентному світловому спектрі. Інтенсивність флюоресценції, яка відображала зміни величини  $\Delta\psi$ , оцінювали за допомогою авторської комп'ютерної програми CellStitcher.

На початку експерименту для підтвердження функціональної активності мітохондрій у клітинах лімфоми використовували протонатор FCCP, за дії якого мембранний потенціал теоретично мав би знижуватися.

До того ж, оскільки досліджувані речовини розчинені в диметилсульфоксиді (ДМСО), перевірено і вплив цього розчинника на мембранний потенціал мітохондрій. Встановлено, що протонатор FCCP із високою достовірністю знижував інтенсивність флюоресценції на 36 % ( $P < 0,001$ ). Водночас ДМСО достовірно не впливав на мембранний потенціал мітохондрій. Встановлено дозозалежну дію ПП2 на  $\Delta\psi$  - у концентрації ПП2 10 мкМ цей показник статистично достовірно не змінювався, однак, спостерігали достовірне зниження інтенсивності флюоресценції у клітинах лімфоми за дії ПП2 у концентрації 50 мкМ на 41 % ( $P < 0,05$ ).

Отже, за дії вищої концентрації піразолопіримідину знижується рівень мембранного потенціалу, що опосередковано підтверджує гіпотезу про те, що мітохондрії залучені у механізм цитотоксичної дії похідного тіазолу, очевидно, через вивільнення цитохрому с із мітохондрій.

**Куришева О.<sup>1</sup>, Красненков Д.<sup>2</sup>, Довбешко Г.<sup>1</sup>**

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ІЧ-ФУР'Є СПЕКТРІВ ВЕНОЗНОЇ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП**

<sup>1</sup> Відділ фізики біологічних систем, Інститут фізики НАН України  
просп. Науки, 46, м. Київ, 03028, Україна

<sup>2</sup> Відділ епігенетики, Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України  
вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114, Україна  
a\_kuryшева@knu.ua; matinelli@gmail.com

**Kuryшева O., Krasnenkov D., Dovbeshko G.** COMPARATIVE ANALYSIS OF VENOUS BLOOD SPECTRA OF PATIENTS FROM DIFFERENT AGE GROUPS. In this work, we used the ATR-FTIR method with a diamond crystal, which allows us to record high-precision spectra with a minimum amount of sample. Spectra were recorded on the basis of 579 venous blood samples from patients with different Hb<sub>A1C</sub> indices from 7 age groups. The aim of the experiment is to determine the characteristic absorption bands for samples of different age groups in the fingerprint area.

Метод ІЧ-спектроскопії з Фур'є перетворенням є загальнозживаним неінвазивним методом вивчення структури і конформації біомолекул.

Цей метод набув широкого застосування у клінічних дослідженнях, зокрема, в судовій медицині, дослідженні патологій і радіаційних впливів. Перевагою методу є його висока чутливість і точність, яка дає

зможу завдяки характеристичності коливань молекулярних груп не тільки визначати компонентний склад речовини, але і детектувати унікальні для кожного окремого зразка домішки.

Враховуючи унікальність методу, запропоновано вивчити зміни коливальних спектрів крові залежно від віку та рівня глікованого гемоглобіну ( $Hb_{A1C}$ ).

Експериментальну частину роботи виконували на основі 579 зразків венозної крові пацієнтів із різними показниками глікованого гемоглобіну (3-12 %  $Hb_{A1C}$ ), наданими відділом епігенетики Інституту геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України.

Серед них 47,7 % (282 особи) чоловіків і 49,75 % (297 осіб) жінок, розділених на 7 вікових груп, кожна з яких поділена на 3 групи значень  $Hb_{A1C}$  (3-6 % — у межах норми; 7-8 % — високі значення і 9-12 % — екстремальні значення) У роботі використано метод ІЧ-спектроскопії з Фур'є перетворенням у моді порушеного повного внутрішнього відбивання (ППВВ) на діамантовому кристалі (критичний кут  $33^\circ$ ), що дає змогу записати високоточні спектри за короткий час і використовуючи невелику кількість зразка.

Проведено аналіз спектрів, а саме відношення частот до коливань молекулярних груп певних органічних сполук у складі крові та порівняння донорських зразків крові та пацієнтів з екстремальними показниками глікованого гемоглобіну в межах однієї вікової групи. Проведено порівняння референтних зразків із різних вікових груп.

Встановлено, що найбільші зміни у спектрі відбуваються в ділянці аміду І і валентного коливання С-О ( $1650\text{ см}^{-1}$  і  $1123\text{-}892\text{ см}^{-1}$ , відповідно), що і буде використано для подальшого кореляційного аналізу.

**Лапід О.О.<sup>1</sup>, Шарій Т.І.<sup>2</sup>, Кушнір Г.В.<sup>2</sup>, Отчич В.П.<sup>1</sup>**

**ЗМІНИ ВМІСТУ ПОКАЗНИКІВ У КОРМАХ «СТАРТЕР» І «ГРОВЕР» ДЛЯ ПТИЦІ**

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

*<sup>2</sup>Державний науково-дослідний інститут ветпрепаратів і кормових добавок  
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна  
o.lapida97@gmail.com  
tanyashariy@gmail.com*

**Lapida O., Shariy T., Kushnir G., Otchych V.** CHANGE IN THE CONTENTS OF FEEDS IN THE FEED «STARTER» AND «GROVER» FOR THE BIRD. Such results do not satisfy the population's need for dietary products, despite the considerable scientific support for the poultry industry, the level of which is approaching the world. In order to provide our own market with quality goods and, at the same time, to make them competitive on the foreign market, it is necessary to develop and improve the system of quality control of raw materials and products. Such a task is perhaps the main goal of the State Research Institute for Veterinary Drugs and Bioadditives, which is based on a large range of studies on compliance with state standards of quality of feed, premixes, veterinary products and agricultural products.

Обсяги виробництва сільськогосподарської продукції в Україні мають чітку тенденцію до зростання. Щоб ця продукція була конкурентоспроможною, слід розвивати і вдосконалювати систему контролю якості як сировини, так і продукції. На базі ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок ведуться дослідження на відповідність державним стандартам якості кормів, преміксів, кормової сировини, продукції сільського господарства.

Мета нашої роботи - перевірити отримані зразки комбікормів для бройлерів «Стартер» і «Гровер». Для цього нами були поставлені такі завдання:

- 1) визначити вміст сирової клітковини у кормах для бройлерів «Стартер» і «Гровер»;
- 2) визначити вміст сирого протеїну у кормах для бройлерів «Стартер» і «Гровер»;
- 3) визначити вміст сирого жиру в кормах для бройлерів «Стартер» і «Гровер»;
- 4) визначити вміст вологи у кормах для бройлерів «Стартер» і «Гровер».

Об'єкт дослідження: сира клітковина, сирий протеїн, сирий жир і вологість у комбікормах для бройлерів «Стартер» і «Гровер». Предмет дослідження: вміст сирової клітковини, сирого протеїну і сирого жиру та вологи у комбікормах для бройлерів «Стартер» і «Гровер».

Вміст сирової клітковини у комбікормі «Стартер» для птиці становив 1,38 % при нормі 3 %, у комбікормі «Гровер» - 1,59 % при нормі 4 %.

Вміст сирого протеїну у комбікормі «Стартер» для птиці - 22 % при нормі 23 %, у комбікормі «Гровер» - 20,8 % при нормі 21 %.

Під час визначення вологості у комбікормі «Стартер» і «Гровер» отримали 8,3 та 9 %, відповідно. Ці результати не перевищували 13 %, що є верхньою межею норми у комбікормах.

Під час визначення вмісту сирого жиру в комбікормі «Стартер» і «Гровер» отримано 6,9 і 7,8 %, відповідно.

Перевірені зразки комбікормів «Стартер» і «Гровер» для згодовування бройлерам від 14 днів до 14 тижнів відповідали нормативним документам. Вони абсолютно придатні як корм для забезпечення українського ринку м'ясом птиці.



Лозинська С., Генега А., Тарновська А.

ПОКАЗНИКИ ЕЯКУЛЯТУ В ЧОЛОВІКІВ 40–50 РОКІВ У НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЯХ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
my.lozynska@gmail.com

**Lozynska S., Heneha A., Tarnovska A.** INDICATORS OF EJACULATE MEN AGED 40–50 YEARS IN NORMAL AND IN PATHOLOGICAL. Spermograms of men with asthenozoospermia, oligozoospermia and teratozoospermia have been analyzed. It was shown that the most pronounced pathological changes in spermograms of men suffering from asthenozoospermia is a significant increase in the viscosity of semen and fluid in spermatozoa in 1 ml of ejaculate, as well as a significant decrease in spermatozoa movement by category “a”, and in spermograms of men, patients on teratozoospermia – a decrease in the number of morphologically normal sperm and a significant deviation from the norm patients on oligozoospermia. The relationship between the causes of male infertility and the consequences of changes in qualitative and quantitative indicators of ejaculation and the reproductive system as a whole are revealed. Male infertility, in particular asthenozoospermia, oligozoospermia and teratozoospermia, can be caused by many different diseases in which deviations from the norms of qualitative and quantitative indicators of ejaculate are observed. According to the data obtained from the observation of men aged 40–50 years, there is a tendency to decrease the volume of ejaculate, concentration and motility of sperm, as well as their morphological status.

Сталий розвиток суспільства будь-якої країни, як і цивілізації в цілому, залежить від демографічних показників та перспектив їх розвитку, які, у свою чергу, залежать від репродуктивного здоров'я населення. Проблему репродуктивного здоров'я і тривалості життя виведено в ранг загальнонаціональних, а збереження репродуктивного здоров'я населення виходить за рамки суто медичного питання і стає загальнодержавною, міжсекторальною проблемою (Концепція Державної програми «Репродуктивне здоров'я нації на 2006–2015 рр.»).

Поширеність неплідності набуває характеру епідемії. Частка чоловічої неплідності у загальній кількості випадків неплідності за даними різних авторів становить 40–50% (Brugh V.M., Lipshultz L.I., 2004).

Середня кількість сперматозоїдів у еякуляті здорового чоловіка за останні 50 років зменшилась удвічі, а середній об'єм еякуляту – на одну третину (Яцків, 2017). Відомо, що багатокомпонентний склад внутрішніх чоловічих статевих органів перебуває у постійній перебудові у зв'язку з віковими змінами, функціональною активністю та впливом різних чинників. Саме тому важливо враховувати як фізіологічні, так і вікові зміни чоловічої здатності до запліднення (Яцків, 2013).

Діагностика чоловічого непліддя включає в себе клінічні методи дослідження та методи лабораторно-інструментального обстеження. Серед останніх найважливішим для з'ясування функціонального стану статевих залоз і запліднюючої здатності сперми є дослідження еякуляту. До критеріїв включення відібрано пацієнтів із астено- і/або терато- і/або олігозооспермією I–III ступеня. Критерії виключення – азооспермія. Досліджуваним чоловікам, які палили на момент звернення, було рекомендовано кинути палити. Жоден із пацієнтів не мав в анамнезі варикоцеле, гострих запальних процесів статевих органів, соматичної патології, що могли б вплинути на репродуктивну здатність чоловіків, а також не проходив курси хіміо- та радіаційної терапії. Як матеріал для контрольної групи використовувалися зразки донорської сперми, зібраної від 50 здорових донорів.

Усі зразки донорської сперми мали нормальні показники спермограми згідно з останніми рекомендаціями ВООЗ 2010 р. (WHO, 2010): об'єм сперми >1,5 мл, концентрація сперматозоїдів >15 млн/мл, загальна кількість сперматозоїдів у еякуляті >39 млн, прогресивна рухливість (кат. a+b) сперматозоїдів >32%, загальна рухливість (кат. a+b+c) сперматозоїдів >40%, кількість форм із нормальною морфологією >4% та кількість живих форм >58%.

Термін статевого життя без контрацепції в парі та середній вік пацієнтів обох дослідних груп не мав статистично значимої різниці, тому суттєво не вплинув на результати ДРТ. Середній вік пацієнтів обох дослідних груп також не мав статистично значимої різниці із контрольною групою.

У результаті досліджень нами виявлено, що зі 50 чоловіків у 14 спермограми відповідали астенозооспермії, у 11 – тератозооспермії, у 13 – олігозооспермії, а в 12 – нормозооспермії (коли кількісні та якісні показники сперми є в межах норми). За контроль ми брали спермограми пацієнтів із нормозооспермією.

Чоловіче непліддя, зокрема, астенозооспермія, олігозооспермія та тератозооспермія, може бути викликане безліччю різноманітних захворювань, при яких спостерігається відхилення від норм якісних і кількісних показників еякуляту. Згідно з даними, отриманими при спостереженні чоловіків віком 40–50 років, виявлено тенденцію до зниження показників об'єму еякуляту, концентрації та рухливості сперматозоїдів, а також їхнього морфологічного стану.

І загальне здоров'я чоловіків, і якість їх сперми погіршуються із віком. Після 35 років здатність сперматозоїдів до запліднення вдвічі менша, ніж в молодшому віці. Після 40 років рівень статевого гормону тестостерону істотно падає. Крім того, за останні 40 років якість сперми чоловіків в розвинених країнах значно погіршилась - рухливих сперматозоїдів стало на 20% менше.

Здоровий спосіб життя: збалансоване харчування, підтримка нормальної ваги, регулярні фізичні навантаження та відсутність шкідливих звичок - значно покращить шанс стати щасливими батьками що в юності, що в зрілому віці.

**Політило О.<sup>1</sup>, Фінюк Н.<sup>2</sup>, Попович М.<sup>1</sup>, Шалай Я.<sup>1</sup>, Мітіна Н.<sup>3</sup>, Заїченко О.<sup>3</sup>, Стойка Р.<sup>2</sup>, Бабський А.<sup>1</sup>**

**ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ ПОХІДНОГО ТІАЗОЛУ В КОМПЛЕКСІ  
З НАНОРОЗМІРНИМИ ПОЛІМЕРНИМИ НОСІЯМИ**

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

<sup>3</sup>Національний університет «Львівська Політехніка»

пл. Св. Юра, 2, м. Львів, 79013, Україна

ron45042@gmail.com

**Politylo O., Finiuk N., Popovych M., Shalai Ya., Mitina N., Zaichenko O., Stoika R., Babsky A.**  
CYTOTOXICITY OF THIAZOLE DERIVATIVE IN COMPLEX WITH NANOSCALE POLYMERIC CARRIERS. Targeting nanomaterials that are conjugated with potential antitumor ligands can improve drug solubility, their selectivity towards cancer cells, and increase their cytotoxicity. The complexation of N-(5-benzyl-1,3-thiazol-2-yl)-3,5-dimethyl-1-benzofuran-2-carboxamide with polyethylenglicol-based nanomaterials significantly increased compound cytotoxicity toward tumor cells and reduce toxicity towards pseudo-normal cells.

Онкологічні захворювання є однією з основних причин смертності. За прогнозами МОЗ України, у 2020 р. рівень захворюваності на злоякісні новоутворення в країні збільшиться на 15 %, а, як стверджує ВООЗ, до 2030 р. смертність від онкозахворювань у світі зросте на 45 % (порівняно з 2007 р.). Триває пошук не тільки нових протипухлинних препаратів, а й способів підвищення їхньої ефективності й подолання низки таких проблем як набута резистентність, загальна токсичність, неселективність, погана розчинність і недостатня проникність лікарських препаратів крізь клітинні мембрани.

Похідні тiazолу - перспективні протипухлинні препарати, для яких характерні широкий спектр біологічної дії та висока цитотоксичність щодо окремих ліній пухлинних клітин. Для покращення проникності й розчинності препаратів використовували полімерні носії на основі поліетиленгліколю (ПЕГ).

У досліджах використовували клітинні лінії гепатокарциноми людини HepG2, гліоми щура С6, нирки ембріона людини HEK293 і фібробласти миші NIH3T3. Антипроліферативну активність визначали за допомогою МТТ тесту.

Досліджували дію похідного тiazолу N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід (БФ1) в комплексі з кополімером полі(ВЕП-ко-ГМА) (5:95) з прищепленим фрагментом монометилового етеру ПЕГ з молекулярною масою 550 (A24ПЕГ(550)), поліПЕГ-метакрилату (поліПЕГМА475) та з кополімером ПЕГ(475)-метакрилату і диметилмалеїнату (полі(ПЕГМА-ко-ДММ) (90:10)).

Встановлено, що речовина БФ1 у комплексі з носієм на основі A24ПЕГ(550) проявляла вищу цитотоксичність щодо клітин ліній HepG2 та С6, ніж вільна речовина. Комплекси БФ1 з полі(ПЕГМА-ко-ДММ) виявили більш виражену антипроліферативну дію на клітини ліній HepG2 і С6, ніж вільна речовина чи контрольний протипухлинний препарат доксорубіцин. Комплекси БФ1 з A24ПЕГ(550) та полі(ПЕГМА-ко-ДММ), а також вільні полімери були малотоксичними для псевдонормальних клітин ліній HEK293 та NIH3T3. За дії комплексів, полімерів і речовини БФ1 виявлено більше 70 % живих клітин ліній HEK293 та NIH3T3.

Отже, комплекси похідного тiazолу БФ1 з полімерами A24ПЕГ(550) та полі(ПЕГМА-ко-ДММ) підвищують цитотоксичну дію *in vitro* досліджуваної речовини щодо пухлинних клітин.

**Распопина А.<sup>1</sup>, Гарасим Н.<sup>1</sup>, Зинь А.<sup>2</sup>, Санагурський Д.<sup>1</sup>**

**ДІЯ ГІСТАМІНУ НА ЕРИТРОЦИТИ ЩУРИВ**

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

<sup>2</sup>Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

garasymnaty@gmail.com

**Raspopyna A., Narasym N., Zyn A., Sanagursky D.** EFFECT OF HISTAMINE ON RAT ERYTHROCYTES. Histamine is present in the erythrocytes of female rats. Exogenous administration of histamine causes a decrease in endogenous histamine content. This indicates that increased histamine content causes the release of endogenous biogenic amine from erythrocytes, which is consistent with studies of blood eosinophils. H1 receptor blocker (desloratadine) at low concentrations causes a decrease in histamine in red blood cells

Гістамін - універсальний регулятор практично всіх життєво необхідних процесів, оскільки він є центральним нейромедіатором, адаптогеном, вазорегулятором, біологічно активною речовиною запалення, учасником ембріогенезу та гемопоєзу, імунорегулятором і реалізатором алергічних реакцій, активатором секреції травних та ескреторних залоз, кардіальним інотропом і хронотропом. Основні механізми дії гістаміну опосередковані активацією чотирьох різних типів гістамінових рецепторів (H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>), які діють через зміну внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію, протеїнкінази С, фосфоліпаз А, С, D, циклічних гуанінмонофосфату чи аденозинмонофосфату, що викликає активацію або пригнічення основних функцій клітин (Jutel M., Jadidi-Niaragh, 2010; Borriello, 2017). На сьогодні залишається невідомою наявність гістаміну в еритроцитах.

Щоб з'ясувати, чи є в еритроцитах крові самок щурів гістамін, гепаринізовану кров центрифугували, потім плазму відбирали, а еритроцити відмивали фізіологічним розчином. Після цього проводили гемоліз еритроцитів і відбирали зразок для визначення ендogenous гістаміну. Щоби встановити, чи еритроцити здатні адсорбувати гістамін, гепаринізовану кров центрифугували, після чого плазму виливали, а до еритроцитів додавали гістамін (0,01 % гістаміну дигідрохлорид). Таким чином, кінцева концентрація екзогенного гістаміну в пробі становила 5,398 мкМ.

Для вивчення наявності на плазматичній мембрані еритроцитів  $H_1$  рецепторів до гістаміну застосовували як блокатор цих рецепторів дезлоратадин (комерційна назва «Едем», виробник ПАТ «Фармак»). Для цього до еритроцитів додавали дезлоратадин (таким чином, щоб кінцева концентрація становила відповідно 0,1; 1; 10 мкМ). До інших зразків після інкубації з дезлоратадином додавали гістамін (кінцева концентрація становила 5,398 мкМ). Проводили інкубацію 5 хв і відбирали зразки для аналізу, які попередньо були відмиті фізіологічним розчином. Потім проводили гемоліз еритроцитів. Вміст гістаміну визначали за методикою Л. М. Вороніної (Вороніна, 2004). Кількість білка у кожному зразку визначали за методом Лоурі (Lowry, 1951). Нами встановлено, що в еритроцитах самок щурів наявний гістамін. Екзогенне введення гістаміну зумовлює зниження ендogenous вмісту гістаміну на 24 %, хоча така зміна не підтверджена достовірністю. Це свідчить про те, що підвищений вміст гістаміну зумовлює вивільнення з еритроцитів ендogenous біогенного аміну, а це узгоджується з дослідженнями еозинофілів крові.

Дезлоратадин зумовлює достовірне зниження вмісту гістаміну в еритроцитах. Потрібно зазначити, що високі концентрації дезлоратадину (10 мкМ) спричинюють менш інтенсивне зниження вмісту біогенного аміну в досліджуваних клітинах. Нами показано, що на фоні дії блокатора  $H_1$  рецептора у концентрації 10 мкМ екзогенне введення гістаміну спричинює накопичення останнього в еритроцитах на 64 %.

Варто зазначити, що дезлоратадин у концентрації 0,1 мкМ на тлі дії гістаміну знижує вміст ендogenous біогенного аміну на 80 % порівняно з контролем.

Отже, в еритроцитах самок щурів наявний гістамін. Блокатор  $H_1$  рецепторів у низьких концентраціях зумовлює зменшення вмісту гістаміну в еритроцитах, а у високих – збільшення.

**Сова Н., Шалай Я., Тимофєєв О., Гренюх В., Бабський А.**

#### ВПЛИВ НОВОГО ПОХІДНОГО 2-АМІНО-5-БЕНЗИЛТІАЗОЛУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛІТИН ЛІМФОМИ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
madrigalamar@gmail.com*

**Sova N., Shalai Ya., Tymofieiev O., Hreniukh V., Babsky A.** EFFECT OF NOVEL 2-AMINO-5-BENZYLTHIAZOLE DERIVATIVE ON LYMPHOMA CELL ULTRASTRUCTURE. The effect of the newly synthesized thiazole derivative on the Nemeth-Kelner lymphoma (NK/Ly) cell ultrastructure was investigated. The lymphoma control cells have typical for tumor cells shape, such as large nucleus, decreased cytoplasm volume, and specific protrusion of the plasma membrane. The action of the thiazole derivative at concentrations of 10 and 50  $\mu$ M revealed various manifestations of cytotoxicity: deformation and disintegration of the nucleus, destruction of the plasma membrane, an increase in number of lysosomes, and other apoptotic and necrotic structural changes.

Ультраструктурні дослідження дають змогу виявляти вплив шкідливих факторів на ті чи інші компоненти клітини. Електронна мікроскопія разом із вивченням функціональних процесів дає змогу встановити причинно-наслідкові зв'язки між різними патологічними станами й ультраструктурними змінами в клітині (Зинь, 2014). Похідні тіазолу – гетероциклічні сполуки, що мають антипухлинну (Dos Santos, 2016), антибактерійну, протигрибкову, противірусну, протизапальну, протисудомну й антидепресивну активність (Turov, 2012). Попередньо встановлено виражену цитотоксичну дію новосинтезованих похідних тіазолу на окремі лінії пухлинних клітин (Finiuk, 2017, 2018).

Мета роботи - дослідити вплив похідного тіазолу (N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід, БФ1) на ультраструктуру клітин лімфоми.

Дослідження проводили на нелінійних мишах-самцях масою 20-30 г з прищепленою лімфою Немет-Келнера (NK/Ly).

Асцитну форму лімфоми прищеплювали методом внутрішньочеревної інокуляції. Асцит відбирали дренаванням черевної порожнини стерильним шприцом під етерним наркозом на 7–10-ту добу після інокуляції. Ультраструктуру клітин лімфоми досліджували методом електронної мікроскопії (Kaminsky et al., 2008).

Похідне тіазолу БФ1 розчиняли у диметилсульфоксиді (кінцева концентрація якого не перевищувала 5 %), додавали до гомогенату лімфоми у діючих концентраціях 1, 10 і 50 мкМ та інкубували протягом 10 хв. На підставі електронних мікрофотографій розраховували такі показники: співвідношення площі ядра і клітини, відсоток цитоплазми у клітині, кількість мітохондрій і кількість лізосом. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми MS Excel-2013. Для оцінки достовірності обчислювали коефіцієнт Стьюдента.

Аналіз електронограм контрольних клітин лімфоми NK/Ly показав, що ядра займають більшу частину клітини, а цитоплазма - орієнтовно 20-30 % загального об'єму. Таке співвідношення характерне для пухлинних клітин, де відбуваються інтенсивні синтетичні та проліферативні процеси. Встановлено, що у концентрації 10 мкМ речовина БФ1 зумовлює деструктивні зміни клітин лімфоми переважно апоптичного типу.

Зокрема, клітини зменшувались і втрачали еліптичну форму. Спостерігали також деформацію ядра, зменшення його розмірів, руйнування плазматичної мембрани, набухання крист мітохондрій. У концентрації 50 мкМ речовина БФ1 зумовлює ще більші деструктивні зміни клітин лімфоми апоптичного і некротичного типу.

Зокрема, спостерігали різні механізми деструкції: набухання клітин, деформацію і руйнування ядра, руйнування плазматичної мембрани, достовірне ( $P < 0,05$ ) збільшення кількості мітохондрій і лізосом та ін.

Отже, досліджуване похідне тіазолу у концентраціях 10 і 50 мкМ призводить до необоротних змін апоптичного та некротичного характеру в ультраструктурі клітин лімфоми.

**Тимофєєв О., Шалай Я.**

#### ПЕРСПЕКТИВИ МАТЕМАТИЧНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У РАКОВИХ КЛІТИНАХ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
oleg.timofeev20@gmail.com*

**Tymofieiev O., Shalai Ya.** PROSPECTS OF MATHEMATICAL MODELING OF LIPID PEROXIDAL OXIDATION PROCESSES IN CANCER CELLS. Today, the use of mathematical modeling of lipid peroxidation processes has come a long way from computer simulations based on sets of known biochemical reactions to molecular-dynamic simulations and the use of artificial intelligence. Some of them, such as modern regression techniques or booster gradient machines, can be useful in the study of the course of biochemical reactions in living cells or in predicting their condition under certain conditions.

Пероксидне окиснення ліпідів - це процес ланцюгових реакцій лавиноподібного типу, що відбуваються у живих клітинах та ініціюються вільними радикалами Оксигену. Активні форми Оксигену (АФО) генеруються як у нормальних метаболічних перетвореннях, так і за умов оксидативного стресу, викликаного, наприклад, активацією ксенобіотиків. У цьому процесі молекулярний кисень включається в поліненасичені жирні кислоти з утворенням гідропероксидів як первинного вихідного продукту, який може спричинити руйнівну дію на фосfolіпідні мембрани у клітинах.

Цей процес на етапах ініціювання, поширення і припинення формує кілька типів вторинних вільних радикалів (пероксиди, гідропероксили) та низку нерадикальних продуктів (альдегіди, алкани, алкени, кетони і оксикислоти), які можуть додатково взаємодіяти з білками й іншими клітинними макромолекулами. Оскільки досі відсутні вичерпні знання про перебіг, механізми, рушійну силу і взаємозв'язки цих процесів, актуально звернутися до математичного моделювання як до найточнішого інструменту для розв'язання подібних задач.

Використання математичного моделювання процесів пероксидного окиснення ліпідів пройшло великий шлях від комп'ютерних симуляцій, які базуються на наборах відомих біохімічних реакцій та імітують циклічність перетворень у системі (Tappel, 1989, Babbs, 1990), до молекулярно-динамічних симуляцій (Wong-Ekkabut, 2007), які використовують знання про міжмолекулярні взаємодії для симуляції системи, що вільно розвивається. Ці підходи є ефективними способами передбачення кінцевих станів системи, проте накладають значні обмеження на умови та піддослідні об'єкти, що не дає змоги ефективно використовувати їх для оперативного отримання прогнозів у разі потреби.

Сьогодні активно розвивається напрям штучного інтелекту, що вивчає та використовує різновиди алгоритмів, здатних до навчання. Деякі з них (сучасні методи регресії або машини градієнт бустингу) можуть бути корисні у процесі дослідження перебігу біохімічних реакцій у живих клітинах або для прогнозування їхнього стану за певних умов. Від уже випробуваних підходів вони відрізняються можливістю симулювати системи з найскладнішими внутрішніми взаємодіями і водночас повністю абстрагуватися від них, зберігаючи при цьому велику точність передбачень.

Можливості навчання алгоритмів дають змогу мінімізувати вплив нашого неповного розуміння внутрішніх механізмів піддослідних процесів.

Використання сучасних методів побудови моделей для прогнозування може значно підвищити якість нових моделей, прискорити їхню розробку та зробити їх більш доступними для застосування у наукових дослідженнях.

**Meskal O., Fafula R., Vorobets Z.**

#### KINETICS OF $Ca^{2+}$ -TRANSPORT BY ATPASES IN SPERMATOZOA OF INFERTILE MEN

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University  
69, Pekarska St., Lviv, 79010, Ukraine  
meskalo.olga710@gmail.com*

Infertility is one of the most important medical and biological problems. Approximately 50 % of the infertility cases are related to male factor which has a tendency to increase. The most common abnormal parameters are low

motility (asthenozoospermia) or a combination of these abnormalities (oligoasthenozoospermia) (Lamb, 2010; Omu, 2013). For the normal operation of sperm, it is necessary to rapidly change intracellular concentrations of calcium ions in response to certain stimuli.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase (EC 3.6.1.38) plays a key role in the extrusion of  $\text{Ca}^{2+}$  from the cytoplasm, maintaining its concentration in the low nanomolar range (10-100 nM). The total activity of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase consists of a plasma membrane that is resistant to thapsigargin and is sensitive to thapsigargin ATPase of internal  $\text{Ca}^{2+}$  stores.

The aim of present study was to study the properties of membrane-bound  $\text{Ca}^{2+}$ -transport systems in spermatozoa of fertile (normozoospermia) and infertility men (asthenozoospermia and oligoasthenozoospermia).

Human semen was obtained from 7 healthy volunteers and 12 infertile men with asthenozoospermia and oligoasthenozoospermia undergoing routine semen analysis for couple infertility at Lviv Regional Clinical Hospital (Ukraine). Control group consisted of healthy men with somatic fertility, normozoospermia and confirmed parenthood (married for 3–10 years and have healthy 1–3 children). The classical semen parameters of spermatozoa concentration, motility, and morphology were examined according to World Health Organization criteria (2010). Studies of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP-dependent hydrolysis of sperm ATP were performed in a standard incubation medium, which was modified by the time of incubation. The apparent kinetic parameters of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent ATP hydrolysis are the initial reaction rate  $V_0$ , the maximum (plate) amount of the reaction product  $P_{\max}$  and the characteristic reaction time was determined by linearization at  $\{P/t; P\}$ , where  $P$  is the amount of reaction product ( $P_i$ ) and  $t$  is the incubation time (Kosterin, 1987).

Results and discussion. The analysis of the results shows that accumulation of  $P_i$  in reaction catalyzed by thapsigargin-resistant and thapsigargin-sensitive ATPase in normozoospermic samples in time interval 0-2 min. correspond to zero order reactions. In this time interval the graph of dependence of the amount of  $P_i$  on incubation time is almost linear. The values  $\tau$  of reaction catalyzed by thapsigargin-resistant ATPase in spermatozoa from men with asthen- and oligoasthenozoospermia are 1.8–2.0 times greater than values in normozoospermic samples. The value of  $V_0$  of reaction catalyzed by thapsigargin-resistant and thapsigargin-sensitive ATPase in asthen- and oligozoospermic samples is reduced 2,0–4,0 times compared to normozoospermic samples ( $P < 0,05$ ). The value of  $P_{\max}$  in pathospermic samples is 2,0–2.5 times lower in comparison with normozoospermic samples ( $P < 0,05$ ).

Based on these results, we assume that in spermatozoa of infertile men the transport of  $\text{Ca}^{2+}$  ions is less active and characterized by a lower capacity than in fertile men.

**Kharchenko Y.<sup>1</sup>, Shchuka M.<sup>1</sup>, Zhytniakivska O.<sup>1</sup>, Vashchenko O.<sup>2</sup>, Vus K.<sup>1</sup>, Tarabara U.<sup>1</sup>, Trusova V.<sup>1</sup>**

#### INHIBITION OF INSULIN AMYLOID FIBRIL FORMATION BY TILORONE

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Scintillation Materials, NAS of Ukraine  
60, Nauky Ave., Kharkiv, 61001, Ukraine  
harchenkokarazina@gmail.com

Insulin is a hormone produced by pancreatic beta cells that is crucial for regulating the concentration of glucose in blood. Diabetic patients may suffer from local amyloidosis, caused by the formation of highly ordered protein aggregates, amyloid fibrils, at the insulin injection sites. Amyloid fibrils are typically 10-100 nm in diameter and several micrometers in length. These aggregates possess a characteristic cross- $\beta$ -structure in which  $\beta$ -sheets run parallel to the main fibril axis, while  $\beta$ -strands run perpendicularly to it. Amyloid deposits of different proteins are associated with the development of severe disorders, including Alzheimer's and Parkinson's diseases. One of the promising therapeutic approaches against these disorders lies in the prevention of pathogenic protein fibrillization by small molecules (Alam, 2017).

In view of this, in the present study we tested the potential of tilorone to inhibit insulin amyloid fibril formation in vitro. Tilorone is a synthetic low molecular weight interferon inducer that is used as an antiviral drug. The kinetics of insulin fibrillization was monitored through measuring the time-depended Thioflavin T (ThT) fluorescence increase at 480 nm at pH 7.4, 0.15 M NaCl, 48 °C. ThT is a fluorescent dye possessing high specificity to the  $\beta$ -structures of amyloid fibrils. The fibril-bound ThT excited at 440 nm increases its quantum yield by several orders of magnitude, as compared to that in buffer and in the presence of non-fibrillized protein. It appeared that co-incubation of insulin with tilorone resulted in the same lag period (~ 16 h) with that for insulin in the absence of tilorone (control).

In turn, ThT fluorescence intensity in the tested sample was 160 times lower than that in the control, suggesting that a negligible amount of the fibrillized protein is formed in the presence of the drug. Indeed, fluorescence microscopy indicated that the sample incubated with tilorone had greater number of insulin micrometer-size superfibrillar structures compared to the control. Surprisingly, transmission electron microscopy showed a greater number of insulin aggregates in the sample with tilorone than that in the control, suggesting that secondary structure studies of the observed aggregates should be performed in order to check whether the amorphous ThT-inactive protein species were formed in the presence of the drug. The interaction of tilorone with biomacromolecules, viz. RNA and nucleosides was investigated by Pashynska et al. (Pashynska, 2018). Specifically, the tilorone was found to promote the formation of RNA aggregates which were 10 times larger than the particles present in the control RNA sample. Furthermore, the fluorescence study of the tilorone interaction with human serum albumin performed by Yegorova et al. (Yegorova,

2017) revealed the formation of tilorone-induced albumin aggregates, predominantly stabilized by van der Waals and hydrogen bonds. Similar processes may occur in our study: the formation of stable insulin-tilorone complexes may shift protein aggregation towards the non-amyloid pathway, thus preventing the formation of amyloid fibrils. Specifically, the drug may bind to the end of the growing  $\beta$ -sheet by hydrogen bonds, preventing amyloid elongation phase. Indeed, tilorone seems to inhibit amyloid fibril elongation, because it did not exert a noticeable effect on the lag time (nucleation) of insulin fibrillization.

In conclusion, the obtained results, showing the ability of tilorone to inhibit insulin amyloid fibril formation, can be used in developing the novel effective anti-amyloid drugs and in improving the conditions of the long-term storage of the protein.

**Shchuka M.<sup>1</sup>, Kharchenko Y.<sup>1</sup>, Zhytniakivska O.<sup>1</sup>, Kurutos A.<sup>2</sup>, Vus K.<sup>1</sup>, Tarabara U.<sup>1</sup>, Trusova V.<sup>1</sup>**

FORSTER RESONANCE ENERGY TRANSFER BETWEEN THIOFLAVIN T  
AND NOVEL CYANINE DYE IN INSULIN AMYLOID FIBRILS

<sup>1</sup>*V.N. Karazin Kharkiv National University*

*4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine*

<sup>2</sup>*Institute of Organic Chemistry*

*9, Acad. G. Bonchev St., Sofia, 1113, Bulgaria*

*mikhail.shchuka@gmail.com*

Insulin is a hormone of protein nature that has a multifaceted effect on metabolism in almost all human organs and tissues. The main function of insulin is the regulation of carbohydrate metabolism, in particular, the utilization of glucose in the body. The impairment of insulin secretion is the cause of type I and type II diabetes. Moreover, the  $\beta$ -structured aggregates called amyloid fibrils, may be formed at the injection sites of insulin, thus provoking the local amyloidosis. The formation and accumulation of amyloid fibrils in the human organism is the main factor in the development of more than 40 human disorders, including incurable Alzheimer's and Parkinson's diseases. To identify the pathogenic  $\beta$ -structured protein aggregates, the benzothiazole dye Thioflavin T (ThT) is widely used, the quantum yield of which increases by several orders of magnitude upon binding to amyloid fibrils. Our recent study has demonstrated that when ThT is used as an energy donor in the Förster resonance energy transfer (FRET), the sensitivity potential for detecting the protein  $\beta$ -aggregates can be increased (Gorbenko, 2019).

FRET is a dipole-dipole interaction of two chromophores, in which an energy donor (excited dye) transfers the energy to an acceptor (another chromophore) at the nanoscale without emission of an intermediate photon (Lakowicz, 2006). The efficiency of FRET depends on the distance between the chromophores, the orientation of the transition dipoles of the donor and acceptor, the quantum yield of the donor, and characteristics of the surrounding medium. Due to these properties, FRET is a highly informative method of structural characterization of a wide range of biological macromolecules and their complexes (Medintz, 2014).

In this work, we investigated the sensitivity of a one-step FRET from ThT to the new AK3-5 cyanine dye to insulin conformation and aggregation state. The fluorimetric titration of the fibril-bound ThT with AK3-5 did not lead to the acceptor fluorescence, but we observed a noticeable decrease in the donor fluorescence. This means that energy is transferred to the cyanine dye, but the latter is non-fluorescent, probably due to its ability to form the non-fluorescent H-aggregates. By measuring the quenching of the donor fluorescence at increasing acceptor concentrations we calculated the energy transfer efficiency for the donor – acceptor pair ThT-AK3-5. It appeared that the insulin amyloid fibrils are distinguished by the high FRET efficiency, reaching the values up to ~ 90%. In contrast, the energy transfer on the control non-fibrillized protein was negligible. The Förster radius for the ThT-AK3-5 donor-acceptor pair was calculated to be ~ 3.6 nm. Based on this estimate, the average distance between ThT and AK3-5, which are located presumably in the core of insulin fibrils, was evaluated to be about 2.6 nm.

Overall, the proposed approach to amyloid fibril detection proved to possess a high amyloid sensitivity and thus, it can be used to visualize the fibrillar protein aggregates in vitro together with the routine thioflavin T assay.

**Vidybida A., Shchur O.**

INFORMATION REDUCTION IN A REVERBERATORY NEURONAL NETWORK  
THROUGH CONVERGENCE TO COMPLEX OSCILLATORY FIRING PATTERNS

*Bogolyubov Institute for Theoretical Physics*

*14b, Metrolohichna St. Kyiv, 03143, Ukraine*

*olha.shchur@bitp.kiev.ua*

In the inferior temporal cortex (ITC), some neurons are selective to objects based on their complex form. The response of those neurons does not depend on the size of the object the neuron is tuned to. Also, it is invariant with respect to view angle, location in the scene, presence of distractors (Gross, 1984; Rust, 2010). It can be said that information available at the retina is somehow reduced during perception of real objects in the ITC.

We offer here a possible biophysical mechanism that could explain how such a reduction might happen. For this purpose, we perform a numerical simulation of a spiking neural network. The network consists of 9 spiking excitatory fully neurons organized into a square lattice is connected. The interneuronal transmission velocity is chosen similar to

that in thin unmyelinated fibers. Each neuron is simulated by means of the leaky integrate-and-fire model. The network is initially stimulated with different compound stimuli from a definite set and then evolves freely, due to reverberation. Each compound stimulus for the whole network is specified as 9 time moments at which the neurons obtain initial triggering stimulation. For each compound stimulus, in the course of free evolution, activity either dies out completely or the network dynamics converges to a periodic trajectory demonstrating a complex pattern of spatio-temporal activity. The same periodic firing regime may be achieved with different compound stimuli. After applying each stimulus from the set of 390625 ones, 102 different periodic end-states have been found.

After analyzing the trajectories, a conclusion is made that neuronal firing is the necessary prerequisite for merging different trajectories into a single one, which eventually evolves into a periodic regime. A similar conclusion has been made for a circular network composed of 5 binding neurons, (Vidybida, 2011). This kind of behavior is well known for systems with smooth dynamics, (like mechanical systems with friction) or liquids. For those systems, time required to entrain onto a periodic regime is usually infinite. In the case of our network of spiking neurons, this time is finite due to abrupt finite changes of the dynamical state with triggering. The relaxation time required to entrain onto a periodic regime is in the 3 ms – 30 ms range. Observed phenomena of self-organization in the time domain are discussed as a possible model for processes taking place during perception in the ITC. The repetitive firing in the periodic regimes could underpin memory formation through the long-term potentiation mechanism.

## БІОХІМІЯ / BIOCHEMISTRY

**Гриненьків З.-М., Волощук О.**

### АКТИВНІСТЬ КЛЮЧОВИХ ЕНЗИМІВ МЕТАБОЛІЗМУ ГЕМУ В МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ РАЦІОНУ НУТРИЄНТАМИ

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
zoriana9@gmail.com*

**Hrynenkiv Z.-M., Voloshchuk O.** THE ACTIVITY OF THE KEY ENZYMES OF HEME METABOLISM IN THE MITOCHONDRIAL FRACTION OF RAT LIVER UNDER CONDITIONS OF DIFFERENT CONTENT OF NUTRIENTS IN DIET. The research deals with the determination of the heme metabolism enzymes activity under the conditions of low-protein, high-sucrose, and low-protein-high-sucrose diet. The results of the study showed that despite the experimental conditions, there was a decrease in aminolevulinic synthase activity and an increase in heme oxygenase activity. These changes may lead to the accumulation of free heme, which contributes to the formation of oxidative stress.

На сьогодні актуальним залишається вивчення впливу дефіциту або надлишку окремих нутрієнтів на метаболічні процеси в організмі. Система енергозабезпечення однією із перших реагує на зміну співвідношення основних нутрієнтів у раціоні.

Ключовими учасниками енергетичного обміну в печінці є цитохроми, вміст яких регулюється інтенсивністю процесів синтезу і розпаду гемму. Швидкість його утворення залежить від активності ключового ензиму синтезу гемму – амінолевулінатсинтази (АЛС), а швидкість катаболізму гемму контролюється гемоксигеназою (ГО). Мета нашої роботи - визначити активність ключових ензимів метаболізму гемму за умов низькопротеїнової, високосахарозної та низькопротеїнової / високосахарозної дієти.

Результати наших досліджень показали, що активність АЛС, яка каталізує реакцію конденсації гліцину і сукциніл-СоА з утворенням δ-амінолевулінової кислоти – метаболічного попередника гемму, за умов дефіциту білка достовірно не змінюється, тоді як активність ГО, ключового ензиму розпаду гемму, зростає у 1,5 разу. Водночас нами показано, що за умов вживання високосахарозного раціону спостерігається зниження ензиматичної активності АЛС у 1,5 разу. Відомо, що високий вміст глюкози знижує експресію ензиму через вплив на транскрипційний коактиватор ядерного рецептора PGC-1 $\alpha$ , дефіцит якого в гепатоцитах призводить до зниження активності комплексів дихального ланцюга в мітохондріях і як наслідок - знижує потреби в гемі.

На противагу, за вказаних експериментальних умов активність ГО зростає у 1,6 рази. Встановлене нами порушення синтезу гемму на тлі одночасного посилення його розпаду, ймовірно, може розглядатись як один з імовірних механізмів зниження вмісту мітохондріальних цитохромів у досліджуваних експериментальних умовах.

Найвираженіші зміни активності ключових ензимів метаболізму гемму виявлено у тварин, які споживали низько протеїновий / високосахарозний раціон. У тварин вказаної групи виражене зниження активності АЛС супроводжується підвищенням активності ГО втричі. Ймовірно, встановлене підвищення гемоксигеназної активності на тлі зниження амінолевулінатсинтазної активності призводитиме до накопичення неспецифічно зв'язаного або вільного гемму, який проявляє прооксидантні властивості та сприяє формуванню стану окисного стресу. Водночас вільний гем здатний інгібувати активність АЛС за принципом негативного зворотного зв'язку. Встановлені особливості метаболічних перетворень гемму будуть супроводжуватись як порушенням структурної організації цитохромної ділянки дихального ланцюга, так і зниженням функціональної активності його термінальної частини з формуванням енергодефіцитного стану.

**Дмитрів Т., Стрілець Н., Лилик М.**

### ВМІСТ ФЕНОЛЬНИХ РЕЧОВИН І АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ВОДНИХ ТА СПИРТОВИХ ЕКСТРАКТІВ З КВІТІВ РОМАШКИ ЛІКАРСЬКОЇ

*ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна  
tetiana.dmytriv@ukr.net*

**Dmytriv T., Strilets N., Lylyk M.** THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF WATER AND ETHANOL EXTRACTS OF *MATRICARIA CHAMOMILLA* FLOWERS. In this work we compared content of phenolic compounds and total antioxidant capacity (TAC) of water and ethanol extracts prepared from *Matricaria chamomilla* flowers. Using of ethanol as an extractant provided higher extraction of total phenols and flavonoids and higher TAC of the extracts measured by ABTS<sup>+</sup> scavenging and phosphomolybdenum method, than water extraction. Procedure of one and two cycle freezing-thawing did not affect levels of phenol compounds and antioxidant capacity of water plant extracts.



Ромашка лікарська *Matricaria chamomilla* є цінною лікарською рослиною з широким спектром біологічної активності: протизапальною, антибактеріальною, ранозагоювальною, заспокійливою дією, сприятливим впливом на шлунково-кишковий тракт тощо. Основні біологічно активні речовини квітів ромашки – ефірні олії та фенольні сполуки, серед яких переважають флавоноїди. З квітів ромашки найчастіше готують водні відвари, які мають нетривалий час придатності, й спиртові настоянки з довгим терміном зберігання (Кіцера, 2011). Мета дослідження - порівняти вміст фенольних речовин і антиоксидантні властивості у водних відварах (свіжих і підданих заморожуванню-розморожуванню) та у спиртових екстрактах із квітів ромашки.

У роботі використовували подрібнені квіти ромашки лікарської (ПрАТ Фармацевтична фабрика «ВІОЛА»). Для отримання водних відварів рослину сировину заливали киплячою водою у співвідношенні 1:30 і кип'ятили протягом 5 хв з подальшим фільтруванням. Частину відфільтрованих відварів заморожували за  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  і перед визначенням розморожували; частину відварів піддавали повторному заморожуванню-розморожуванню.

Спиртові екстракти готували шляхом змішування рослинної сировини та 70% етанолу (1:30) і витримували 24 год на шейкері (120 об/хв) за кімнатної температури. В отриманих препаратах визначали загальний вміст фенольних речовин за методом Фоліна-Чокальтеу та вміст флавоноїдів колориметричним методом з  $\text{AlCl}_3$ , а також загальну антиоксидантну активність (ЗАА) – за знешкодженням катіон-радикала  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  та фосфомолібденовим методом (Bayliak et al., 2016).

Спиртові екстракти з квітів ромашки лікарської мали на  $\sim 30\%$  вищий вміст фенольних речовин і флавоноїдів, ніж свіжі водні екстракти. Процедура одно-, дво-, триразового і більше заморожування-розморожування знижувала сумарний вміст фенольних речовин, але не впливала на вміст флавоноїдів у водних відварах. ЗАА, визначена за знешкодженням радикала  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  і за фосфомолібденовим методом, була подібною у свіжих і підданих процедурі заморожування-розморожування водних екстрактах. ЗАА спиртових екстрактів була на  $\sim 50\%$  вища за фосфомолібденовим методом і на  $\sim 30\%$  вища за  $\text{ABTS}^{+\cdot}$ -знешкоджувальною здатністю, ніж ЗАА свіжих водних екстрактів.

Отже, використана нами процедура приготування водних відварів з квітів ромашки забезпечує на  $\sim 30\%$  нижчий вихід фенольних речовин, ніж спиртова екстракція. Вища антиоксидантна активність спиртових екстрактів, визначена фосфомолібденовим методом і  $\text{ABTS}^{+\cdot}$ -знешкоджувальною здатністю, вказує, що спирт забезпечує екстракцію додаткових речовин, відмінних від фенольних, які виявляють антиоксидантні властивості.

Процедура багаторазового заморожування-розморожування зменшує сумарний вміст фенольних речовин, що, ймовірно, можна пояснити їхньою деградацією, але не впливає на вміст флавоноїдів і на антиоксидантні властивості водних відварів, тому заморожування можна використовувати як спосіб тривалого зберігання водних відварів з квітів ромашки.

**Дмитришин У., Нагалєвська М., Сибірна Н.**

#### ВИКОРИСТАННЯ ФРУКТОЗИ ДЛЯ ІНДУКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ В ЩУРИВ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна*

*e-mail: ulya.lozinska99@gmail.com*

**Dmytryshyn U., Nagalievsk M., Sybirna N.** THE USE OF FRUCTOSE FOR INDUCTION OF METABOLIC SYNDROME IN RATS. Feeding animals excessive amounts of fructose can develop quickly signs that are characteristic of metabolic syndrome, including obesity, dyslipidemia, impaired glucose tolerance and some features of insulin resistance.

Основою формування метаболічного синдрому є інсулінорезистентність, що запускає хибне коло симптомів, серед яких центральне ожиріння, артеріальна гіпертензія, порушення вуглеводного обміну (збільшення рівня глюкози натще, порушення толерантності до вуглеводів).

Порушення ліпідного обміну є першоосновою розвитку порушень при метаболічному синдромі. Одним із таких порушень є дисліпідемія: поєднання гіпертригліцеридемії, низького рівня холестеролу ліпопротеїдів низької щільності та підвищення фракції дрібних щільних частинок ліпопротеїдів високої щільності.

Метою нашої роботи було оцінити особливості окремих показників ліпідного та вуглеводного обмінів за фруктозо-індукованого метаболічного синдрому.

Для створення дієта-індукованої моделі метаболічного синдрому тварини впродовж 42 днів споживали 10% розчин фруктози з питною водою.

Розвиток метаболічного синдрому супроводжується підвищенням концентрації глюкози в крові на 16,2%, щодо контролю та більш вираженого зростання глікозильованого гемоглобіну (на 69%). Дієта з високим вмістом фруктози призводить до розвитку часткової дисліпідемії, на що вказує зростання вмісту тригліцеридів на 21% та зниження концентрації ліпопротеїнів високої щільності на 9%.

Отже, розвиток гіперглікемії та дисліпідемії є одними з ключових діагностичних маркерів метаболічного синдрому, свідчить про розвиток цього метаболічного порушення у піддослідних тварин.

**Дутчак Т., Борщовецька В., Марченко М.**

**СТАН ЕНЗИМАТИЧНОЇ ЛАНКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ  
ВВЕДЕННЯ БІСФЕНОЛУ А ТА ДІЇ НИЗЬКОРІВНЕВОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
tayadutchak18@gmail.com*

**Dutchak T., Borschovetska V., Marchenko M.** LIVER ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES UNDER THE CONDITIONS OF BISPHENOL A ADMINISTRATION AND LOW-LEVEL LASER IRRADIATION. The study is devoted to the investigation the enzymes activities of the antioxidant system in rats' liver under the conditions of bisphenol A administration and low-level laser irradiation. The decrease of SOD, CAT and GPx were observed in the bisphenol A-exposed animals. The low-level laser exposure leads to the increase of these enzymes activity in liver. These effects indicate the high potential of laser irradiation in suppressing the oxidative stress and, therefore, in reducing the BPA-induced oxidative tissue damage.

Важливу роль у забезпеченні процесів функціонування живого організму відіграє система антиоксидантного захисту, а саме її ензиматична ланка, яка представлена супероксиддисмутазою (SOD, EC 1.15.1.1), каталазою (CAT, EC 1.11.1.6) та глутатіонпероксидазою (GPx, EC 1.11.1.9) (Баглай, 2011). Відомо, що бісфенол А у високих концентраціях може викликати оксидативний стрес, порушуючи баланс між генеруванням активних форм Оксигену та їхнім знешкодженням антиоксидантною системою (Zeinab, 2012). З літератури відомо, що низькорівневе лазерне випромінювання здатне впливати на систему антиоксидантного захисту (Стрижельчик, 2017). Мета нашої роботи - дослідити активність ензиматичної ланки антиоксидантної системи у печінці щурів за введення бісфенолу А та низькорівневого лазерного опромінення.

Дослідження проводили на щурах масою 180-200 г, яких утримували на звичайному харчовому раціоні віварію. Усі тварини були поділені на три групи: I - контроль; II – щури, яким упродовж трьох діб вводили бісфенол А у дозі 50 мг/кг; III - щури, яким вводили бісфенол А у вищезгаданій дозі та протягом трьох днів опромінювали лазерним діодом у червоному діапазоні спектра (довжина хвилі 650 нм) потужністю 50 мВт через шкіру в анатомічній ділянці черевної порожнини. У печінці щурів проводили визначення супероксиддисмутазної, каталазної та глутатіонпероксидазної активностей.

Результати наших досліджень показали, що введення бісфенолу А тваринам у дозі 50 мг/кг супроводжується зниженням у 1,5 разу супероксиддисмутазної активності в печінці щурів, порівняно із тваринами інтактної групи. Даний ензим знешкоджує супероксидний радикал шляхом дисмутації з утворенням пероксиду водню. Утворена активна форма Оксигену далі піддається дії каталази. Це гемопротейн, який каталізує реакцію розкладу пероксиду водню на воду і молекулярний кисень. Введення ксенобіотика призводить до зниження ензиматичної активності в 1,4 разу, порівняно із тваринами контрольної групи. Крім цього, спостерігали зниження глутатіонпероксидазної активності. Даний показник у тварин, яким вводили бісфенол А, є в 1,4 разу нижчий за контроль.

У тварин, яких піддавали дії низькорівневого діодного лазера, зафіксовано тенденцію до зростання супероксиддисмутазної, каталазної та глутатіонпероксидазної активності порівняно з контролем. Ці ефекти свідчать про високий потенціал лазерного опромінення щодо інгібування оксидативного стресу і зменшення бісфенол А-індукованого пошкодження тканини печінки.

Отже, введення бісфенолу А супроводжується зниженням супероксиддисмутазної, каталазної та глутатіонпероксидазної активностей у тварин, тоді як опромінення лазерним діодом підвищує ензиматичну активність.

**Зелінська М., Кеца О.В.**

**ОКИСНЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ  
КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
zelinska99@outlook.com*

**Zelinska M., Ketsa O.V.** THE OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE MITOCHONDRIAL FRACTION OF GUERIN'S CARCINOMA OF RATS BY LASER IRRADIATION. The research deals with the determination of the oxidative modification of Guerin carcinoma proteins in rats under the condition of laser irradiation on tumor tissue. The results of the study showed that daily four-minute laser irradiation into the Guerin carcinoma site leads to increased generation of superoxide radical and oxidative modification of proteins, which may underlie the mechanism of anticancer action of laser irradiation.

На сьогодні лишається актуальною проблема окиснювальної модифікації білків (ОМБ), оскільки цей процес розглядається як основна причина інактивації ферментів, зміни структурної організації білків за умов оксидантного стресу. В матриксі мітохондрій локалізовані різноманітні ферменти дихального ланцюга, потрібні

для окиснення субстратів, але ОМБ призводить до їхньої інактивації та врешті до порушення клітинного дихання. Виникнення і розвиток пухлини також супроводжуються зміною окисно-відновної рівноваги за участю активних форм Оксигену, що призводить до порушень в антиоксидантній системі та до виникнення ОМБ. Тому важливим є питання, як змінюватиметься кількість продуктів ОМБ в пухлині та як впливатиме на цей процес лазерне опромінення, оскільки його механізми дії на сьогодні не є повністю з'ясованими.

Мета нашої роботи - визначити продукти окиснювальної модифікації білків у мітохондріальній фракції клітин карциноми Герена у щурів за дії лазерного опромінення на пухлинну тканину.

Дослідження показали, що в динаміці росту карциноми Герена у мітохондріальній фракції підвищується рівень карбонільних похідних із максимальними значеннями на стаціонарну фазу онкогенезу (21-ша доба росту пухлини). Щоденне опромінення лазерним діодом тривалістю 4 хв упродовж 14 днів ділянки росту пухлини показало підвищення рівня карбонільних похідних у 1,5 разу в мітохондріальній фракції клітин на 21-шу добу росту пухлини. Тоді як за семиденного опромінення не було виявлено суттєвих змін.

Результатом окиснювальної модифікації білків може бути зміна їхньої структурно-функціональної організації та порушення роботи дихального ланцюга. Однією із причин ОМБ може бути генерація активних форм Оксигену (АФО), зокрема, супероксид-аніон-радикала в дихальному ланцюзі мітохондрій.

Встановлено, що у неопромінених пухлиноносіїв є прооксидантний статус, який виявляється у підвищенні генерації супероксид-аніон-радикала в мітохондріальній фракції. Надмірна генерація АФО може бути пов'язана з низькою активністю ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантного захисту в пухлинній тканині.

Крім того, високий вміст активних форм Оксигену в пухлинних клітинах частково може бути зумовлений дефектним мітохондріальним окиснювальним метаболізмом. Опромінення тварин призводить до підвищення генерації супероксидного радикала, причому що триваліше опромінення, то більша генерація, оскільки після 14-денного опромінення вміст супероксидного радикала підвищується в 1,5 разу порівняно з неопроміненими пухлиноносіями. Очевидно, лазерне опромінення у досліджуваній дозі зумовлює утворення високореактивних цитотоксичних речовин. Останні вступають у взаємодію з життєво важливими клітинними структурами і через цитокінові механізми призводять до розвитку запальних реакцій, апоптозу і некрозу пухлинних клітин, результатом чого може бути деструкція пухлин.

**Іванців В., Борщовецька В., Марченко М.**

#### ЦИТОХРОМОКСИДАЗНА АКТИВНІСТЬ В МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВЕДЕННЯ БІСФЕНОЛУ А ТА ДІЇ НИЗЬКОРІВНЕВОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича*

*вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна*

*vita.ivantsiv@gmail.com*

**Ivantsiv V., Borschovetska V., Marchenko M.** CYTOCHROME OXIDASE ACTIVITY OF MITOCHONDRIAL FRACTIONS OF RATS' LIVER UNDER THE CONDITIONS OF BISPHENOL A ADMINISTRATION AND LOW-LEVEL LASER IRRADIATION. The study is devoted to the investigation of cytochrome oxidase activity under the conditions of bisphenol A administration and low-level laser irradiation. The decrease in cytochrome oxidase activity was observed in the bisphenol A-exposed animals. At the same time, treatment of low-level laser irradiation in rats is accompanied by a decrease in this enzymes activity in liver mitochondria. This effect is the result of absorption of specific wavelengths of light by cytochrome oxidase, these results in changes in reduction-oxidation reaction status of cytoplasm and mitochondria.

Одним із можливих механізмів дії низькорівневого лазерного опромінення за умов розвитку патологій є його здатність змінювати редокс-властивості дихального ланцюга, прискорюючи перенесення електронів (Hayworth, 2010). Первинним фотоакцептором у червоному та ближньому до інфрачервоної ділянки видимого спектра є цитохром *c*-оксидаза (Залесский, 2010), це кінцевий ензим електронтранспортного ланцюга.

Окиснення цитохрому *c* супроводжується появою мембранного протонного потенціалу  $\Delta\mu\text{H}^+$ , який використовується клітиною, в першу чергу, для синтезу АТФ (Sharma, 2012). Дослідження особливостей і механізмів дії персистентних контамінантів, з якими людина кожного дня контактує, набувають дедалі більшої актуальності. Бісфенол А (BPA), що є мономером у виробництві різноманітних споживчих товарів, здатний індукувати посилення оксидативних процесів у клітинах організму та призводити до розвитку патологій.

Мета нашої роботи – дослідити цитохромоксидазну активність у мітохондріальній фракції печінки щурів за умов введення бісфенолу А та за дії низькорівневого лазерного опромінення.

У роботі було використано три групи тварин: I – контроль; II – щури, яким вводили бісфенол А; III – щури, яких опромінювали та вводили ксенобіотик. Бісфенол А розчиняли в кукурудзяній олії та щоденно вводили *per os* упродовж 3 діб у дозі 50 мг/кг. 2-хвилинне опромінювання проводили щоденно упродовж 3-х днів лазерним діодом в анатомічній ділянці черевної порожнини на відстані 20 см від поверхні шкіри. Цитохромоксидазну активність визначали спектрофотометричним методом у мітохондріальній фракції печінки щурів.

Результати проведених досліджень показали, що у тварин, яким вводили бісфенол А, спостерігається зниження цитохромоксидазної активності в 1,5 разу порівняно з інтактними тваринами. Даний контамінант

індукує розвиток гепатотоксичності через посилення оксидативного стресу шляхом генерування активних форм Оксигену та вільнорадикальних метаболітів бісфенолу А у тканинах печінки. Відтак, зафіксоване зниження досліджуваної ензиматичної активності може бути зумовлене зв'язуванням вільних кисневих радикалів з атомами металів у складі цитохрому с. Водночас за опромінення тварин низькорівневим діодним лазером, цитохромоксидазна активність збільшувалася в 1,5 разу, порівняно із тим самим показником групи тварин, яким вводили ксенобіотик. Зміну ензиматичної активності можна пояснити прискоренням переносу електронів по дихальному ланцюгу завдяки зміні редокс-властивостей його компонентів.

Таким чином, опромінення тварин низькорівневим діодним лазером підвищує цитохромоксидазну активність, яка інгібується за введення бісфенолу А.

**Креницька Д.І., Юрченко О.В., Басовська О.Г.**

**КІЛЬКІСНИЙ І ЯКІСНИЙ СКЛАД МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ СИРОВАТКИ  
КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ**

*ННЦ «Інститут біології і медицини»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Глушкова 2, м. Київ, 02000, Україна  
dashko.pyshko@gmail.com*

**Krenytska D., Yurchenko A., Basovska O.** QUANTITATIVE AND QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF POLYPEPTIDE POOL IN SERUM UNDER CONDITION OF EXPERIMENTAL OBESITY IN RATS. Obesity is a chronic metabolic disease that nowadays recognized as one of the most common medical and social problems that develops with prolonged disturbance of energy balance and progresses with natural flow. We have detected changes in the qualitative and quantitative content of middle-mass molecules in the serum of rats with experimental obesity. Increased content of middle-mass molecules in the serum indicates pathological shifts of homeostasis that occur when the body is damaged.

Ожиріння – це хронічне захворювання обміну речовин, яке на сьогодні визнане однією з найпоширеніших медико-соціальних проблем, що розвивається за тривалого порушення енергетичного балансу і прогресує при природному перебігу. Ожиріння підвищує ризик розвитку різноманітних захворювань і ускладнень, які часто стають причиною ранньої інвалідності та смерті, у т. ч. цукрового діабету, артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, онкологічних захворювань тощо, при цьому підвищуючи рівень смертності у світі. Кількісні та якісні характеристики молекул середньої маси (МСМ) можуть бути використані для диференціювання діагностики даної патології.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах-самцях з початковою масою 115-150 г. Упродовж одного тижня експерименту всі тварини одержували стандартну їжу “Purina rodent chow” і воду *ad libitum*. На 8-й день тварини були рандомізовано поділені на 2 групи. Щури 1-ї групи (контроль) продовжували отримувати стандартний корм упродовж подальших 10 тижнів. Тварини 2-ї групи (ВКД) споживали висококалорійну їжу. Отримання МСМ і визначення їхнього вмісту в сироватці крові проводили за методом В.В. Ніколайчука.

Нами досліджено зміни вмісту МСМ у плазмі крові щурів за експериментального ожиріння. Було встановлено, що пул МСМ, виділений зі сироватки крові щурів з експериментальним ожирінням, значно вищий, порівняно з контролем. Так, за ожиріння в сироватці крові експериментальних щурів відмічено підвищення відносного вмісту МСМ у 2 рази, порівняно з тваринами контрольної групи.

З урахуванням вищевикладеного, наступний етап роботи передбачав оцінку якісного складу МСМ за умов ожиріння. Для дослідження якісного складу білкової компоненти МСМ проведено хроматографічне розділення молекул за розмірами на колонці зі сефадексом G-15. Показано зміни кількості піків і площі максимумів хроматограм, молекулярних мас сполук у зразках експериментальних тварин, порівняно з інтактними тваринами.

Таким чином, нами виявлено зміни якісного та кількісного вмісту МСМ у сироватці крові щурів з експериментальним ожирінням.

Підвищений вміст МСМ у сироватці крові вказує на порушення гомеостазу, що виникають за ураження організму.

Підвищення рівня МСМ в організмі пов'язане з порушенням їхньої елімінації з організму, з посиленням утворення їх у тканинах або з поєднанням обох механізмів.

**Маслакова А., Фоловко П., Кармаш О., Люта М., Сибірня Н.**

**ВПЛИВ ФОТОБІОМОДУЛЯЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ НА РІВЕНЬ МАРКЕРІВ ОКСИДАТИВНО-НІТРАТИВНОГО  
СТРЕСУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
a.maslakova1999@gmail.com*

**Maslakova A., Karmash O., Folovko P., Liuta M., Sybirna N.** THE EFFECT OF PHOTOBIO-MODULATION THERAPY ON THE LEVEL OF OXIDATIVE-NITRATIVE STRESS MARKERS UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. The development of oxidative-nitrative stress in peripheral blood during diabetes mellitus

causes the increasement of oxidative and nitrative stress markers (e.g., advanced glycation end-products (AGEs), thio-barbituric acid (TBA) products, oxidative modified proteins (OMP), total nitrite/nitrate levels). Photobiomodulation therapy can be an effective short-term concept for the relief of diabetic complications. We observed PBM therapy to reduce oxidative stress markers as a result of antioxidant system normalization and activity of nitric oxide synthase in leucocytes of diabetic rats.

Стієке підвищення концентрації глюкози у крові (гіперглікемія) за цукрового діабету (ЦД) є причиною розвитку оксидативно-нітративного та карбонільного стресів, які супроводжуються підвищеним утворенням кінцевих продуктів окиснення білків, ліпідів і прискороною неензиматичною глікацією.

Це, у свою чергу, сприяє виникненню різноманітних хронічних ускладнень ЦД (нефропатій, ангіопатій та ін.), які важко піддаються лікуванню. У зв'язку з поширеністю і складністю перебігу ЦД актуальним є пошук і застосування нових засобів терапії цього захворювання. Фотобіомодуляційна терапія (ФБМТ) позитивно впливає на загоєння ран за рахунок активації клітинної ланки імунної системи, виявляє анальгезуючий і протизапальний ефекти. Її застосовують як додатковий спосіб лікування синдрому діабетичної стопи. За використання ФБМТ знижується вміст малонового діальдегіду в опромінених тканинах при гострих хірургічних ранах у щурів з ЦД (Denadaı, 2017), що може свідчити про її потенційну антиоксидантну здатність. Також є дані про вплив опромінення довжиною хвилі 635, 660 і 690 нм на рівень синтезу індукцйбельної ізоформи NO-синтази (Moriyama, 2009).

Мета роботи - дослідити вплив ФБМТ на рівень маркерів оксидативно-нітративного стресу за умов експериментального ЦД.

Досліди було проведено на щурах чоловічої статі масою 130-180 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з вільним доступом до їжі та води з дотриманням загальних етичних норм проведення експериментів на тваринах згідно із Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006 р.

Діабет у щурів індукували внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (6 мг/100 г маси тіла тварини). Розвиток ЦД контролювали за вмістом глюкози у крові; для експерименту використовували тварин із концентрацією глюкози вище 14 ммоль/л. Опромінення здорових тварин і тварин із ЦД проводили щодня довжиною хвилі 630-660 нм упродовж 10 днів по 5 хв. Об'єктом дослідження були лейкоцити крові.

У результаті проведених досліджень встановлено, що за опромінення у лейкоцитах крові щурів, хворих на ЦД, знижується рівень окисно-модифікованих білків нейтрального й основного характеру та вміст ТБК-позитивних продуктів. Виявлено, що за впливу ФБМТ знижується активність NO-синтази, а це стає наслідком стабілізації загального рівня нітритів / нітратів. Крім того, застосування ФБМТ викликає зниження кінцевих продуктів глікації у плазмі крові щурів із ЦД порівняно зі значенням у неопромінених тварин. Отже, ФБМТ сприяє нормалізації рівнів маркерів оксидативно-нітративного стресу в лейкоцитах щурів із ЦД. Необхідні подальші дослідження щодо молекулярних механізмів виявлених нами позитивних ефектів.

**Медянець О., Локтіонова Г., Щепотьєва Д., Довбань О.**

**ПРО- Й АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА МОЗКУ ЗА УМОВ  
ВОДНО-ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

*Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
просп. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна  
zencrazycat@gmail.com*

**Mediantsev A., Loktionova H., Shchepotieva D., Dovban O. OXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE BRAIN UNDER WATER-IMMOBILIZATION STRESS.** The results present the changes of oxidant and antioxidant system in the brain under the water immobilization stress and the impact of  $\alpha$ -ketoglutaric acid after the stressing. It has shown the decrease of oxygenation in the brain and consequently transition to increase of oxidative stress in cells of brain. The application of  $\alpha$ -ketoglutaric acid in drinking water can act as a neuroprotector under the water immobilization stress due to decrease the oxidative stress in the brain.

Останніми роками значення проблеми стресу зростає у зв'язку з тим, що життя і діяльність людини нерозривно пов'язані з періодичним, іноді досить тривалим й інтенсивним впливом на неї несприятливих екологічних, соціальних, професійних та інших факторів, які супроводжуються перенапруженням фізичних і психічних функцій. Імобілізаційний стрес супроводжують несприятливі метаболічні перебудови організму, призводячи до розвитку цілого комплексу негативних явищ. Імобілізаційний стрес, що виявляється характерною реакцією зі значним посиленням інтенсивності вільнорадикальних реакцій і накопиченням продуктів ліпопероксидації, обумовлює несприятливі порушення усіх видів обміну речовин (Proia P. et al., 2016).

У дослідженні використано 24 білих щури лінії Wistar вагою близько 180-230 г, яких поділили на 4 групи, по 6 у кожній. *1 група* – щури контрольної групи, яких не піддавали впливу стресу; *2 група* – щури, яких піддавали дії іммобілізаційного стресу протягом 3 діб, використовуючи модифікований протокол стресу із зануренням у воду і дією світла; *3 група* – щури, які після іммобілізаційного стресу отримували  $\alpha$ -кетоглутарат (2 % розчин із питною водою) протягом 14 днів; *4 група* – щури, яких піддавали стресу протягом 3 днів, після чого 14 днів утримували без дії стресових чинників. Щоб отримати білкові фракції, застосовували гомогенізацію

із подальшим центрифугуванням. Для визначення концентрації ТБК-активних продуктів і активності антиоксидантних ферментів (каталази і супероксид-дисмутази, СОД) використовували спектрофотометричні методи. Для статистичної обробки застосовували критерій Краскела-Волліса.

У мозку стресованих тварин спостерігали вірогідне підвищення концентрації ТБК-активних продуктів порівняно з контрольною групою в 1,52 разу ( $P < 0,05$ ). У тварин цієї групи активність СОД і каталази зростала у 7 та у 2,7 разу, відповідно, порівняно з контрольними щурами. У групі тварин, що після стресу утримувалися за стандартних умов віварію протягом 14 днів, достовірних змін концентрації ТБК-активних продуктів порівняно з контролем не спостерігали, але активність антиоксидантних ферментів ще лишалася вищою у 4,4 разу для СОД та в 1,8 разу для каталази. У групі тварин, які після стресування протягом 14-денного відновлення отримували  $\alpha$ -кетоглутарат, не виявлено вірогідно значущих змін у концентрації ТБК-активних продуктів і активності антиоксидантних ферментів порівняно з контролем.

Отримані результати демонструють поступове зниження вмісту окисних продуктів за фізіологічного відновлення після стресу внаслідок високої активності антиоксидантних ферментів, але додаткове застосування  $\alpha$ -кетоглутарату впродовж 14-денного відновлення є ефективнішим для нормалізації балансу оксидантно-антиоксидантної системи у мозку.

**Мороз А.<sup>1</sup>, Дзидзан О.<sup>1</sup>, Стругала П.<sup>2</sup>, Люта М.<sup>1</sup>, Бродяк І.<sup>1</sup>, Сибірна Н.<sup>1</sup>**

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ БУЛЬБ ФІОЛЕТОВОЇ КАРТОПЛІ СОРТУ КОНГО  
НА МАРКЕРНІ ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВІ ЩУРІВ  
ЗА СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

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

<sup>2</sup>Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, С.К.  
25, Norwida, Wroclaw, 50-375, Poland  
morozanna1998@gmail.com

**Moroz A., Dzydzan O., Strugala P., Liuta M., Brodyak I., Sybirna N.** EFFECT OF PURPLE POTATO EXTRACT OF THE BLUE CONGO VARIETY ON MARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS' BLOOD LEUKOCYTES UNDER STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS. Administration of purple potato extract of the Blue Congo variety to animals with DM led to decreasing of advanced oxidation protein products level, a slight decrease in the level of TBA-reactive substances and an increase in the level of advanced glycation end-products compared to the non-treated diabetic groups. Such results may represent the purple potato extract of the Blue Congo variety as one of the potential antioxidant agents.

Цукровий діабет (ЦД) 1 типу – хронічне ендокринно-обмінне захворювання з абсолютною недостатністю інсуліну, що призводить до порушення вуглеводного, ліпідного, білкового та водно-сольового обмінів і акумулювання кінцевих продуктів обміну, які погано елімінуються і тривало циркулюють у крові. Кінцеві продукти обміну, особливо кінцеві продукти глікації білків плазми, формують “метаболічну пам'ять”, за якої розвиток і прогресування діабетичних ускладнень триває навіть після досягнення глікемічного контролю. Щоб запобігти метаболічним, структурним і функціональним порушенням за ЦД, триває пошук нових природних препаратів на основі рослинної сировини. Джерелами біологічно активних речовин, що сприятливо впливають на здоров'я людини, є фрукти й овочі. Одним із найпоширеніших у світі овочів є картопля. Біологічний склад і властивості бульб фіолетової картоплі сорту Конго вивчені мало. Тому мета роботи - дослідити вплив екстракту бульб фіолетової картоплі сорту Конго на маркерні показники оксидативного стресу (кінцеві продукти глікації й оксидації, ТБК-позитивні продукти) у лейкоцитах периферичної крові та на зміну маси тіла тварин зі стрептозотокцин-індукованим ЦД.

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar масою 130–150 г. Діабет індукували внутрішньоочередним введенням стрептозотокцину (55 мг/кг маси), розчиненого в 10 мМ цитратному буфері. Тварин було поділено на 4 групи: контроль (1); контрольні тварини, яким вводили екстракт бульб фіолетової картоплі сорту Конго (2); тварини зі стрептозотокцин-індукованим ЦД (3); тварини з ЦД, яким вводили екстракт бульб фіолетової картоплі сорту Конго (4). Тваринам 2-ї та 4-ї груп досліджуваний екстракт вводили перорально у концентрації 165 мг/кг маси тіла упродовж 14 днів.

Аналізуючи зміну маси тіла тварин, виявили, що приріст маси тварин 1-ї та 2-ї груп за 14 днів становив 22–24 г, тоді як у тварин із ЦД маса тіла зменшувалася на 19 г. У тварин із ЦД, яким вводили екстракт бульб фіолетової картоплі сорту Конго, не спостерігали приросту маси тіла, але й не відбувалося її втрати. У результаті експериментальних досліджень було виявлено достовірне підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів на фоні зниження вмісту кінцевих продуктів глікації й оксидації білків у лейкоцитах тварин із ЦД, порівняно з контролем. Введення екстракту бульб фіолетової картоплі сорту Конго тваринам із ЦД обумовлювало достовірне зниження рівня кінцевих продуктів оксидації білків, зниження концентрації ТБК-позитивних продуктів і підвищення вмісту кінцевих продуктів глікації до значень у тварин контрольної групи. Такі результати можуть бути обумовлені здатністю активних компонентів цього екстракту (антоціанів у ацетильованій формі та фенокислот) зв'язувати і нейтралізувати високореакційноздатні сполуки, зокрема, активні форми Оксигену. Тож

за діабету екстракт бульб фіолетової картоплі сорту Конго виявляє коригуючий вплив на маркерні показники оксидативного стресу в лейкоцитах.

**Муяссарова К., Гіжецька О., Єфіменко Н., Кармаш О., Люта М., Сибірна Н.**

**ЕФЕКТ ФОТОБІОМОДУЛЯЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЗА УМОВ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
nataliya.yefimenko.lnu@gmail.com*

**Muyassarova K., Hizetska O., Yefimenko N., Karmash O., Liuta M., Sybirna N.** EFFECT OF PHOTOBIMODULATION THERAPY ON THE MORPHO-FUNCTIONAL PROPERTIES OF BLOOD ERYTHROCYTES UNDER STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS. It was shown the decrease of washed erythrocyte's membranes resistance to acidic hemolytic in group of animals with streptozotocin-induced diabetes, but applying low-intensity blue radiation under during diabetes mellitus improved this index.

Серед чинників, які викликають ускладнення цукрового діабету (ЦД), окрім гіперглікемії, недостатнього функціонування  $\beta$ -клітин та інсулінової резистентності залучені додаткові групи факторів ризику – структурно-функціональні порушення системи крові. Сьогодні актуальною проблемою лишається необхідність пошуку і застосування принципово нових методів у комплексній терапії ЦД, одним із яких може бути фотобіомодуляційна терапія (ФБМТ). Під час лікування захворювань різної етіології все частіше використовують некогерентне світлодіодне випромінювання. Яскраво виражений біорегуляторний ефект виникає за умов застосування синього світла, зокрема, відомо про його знеболювальну дію. Вважають, що вплив оптичного випромінювання в діапазоні 420-480 нм здійснюється через акваструктури біологічних тканин (Карандашов, 2013).

Мета роботи - дослідити вплив ФБМТ синім світлом на кількості еритроцитів і ретикулоцитів, а також на стійкість до кислотного гемолітика мембран еритроцитів крові щурів за умов стрептозотоксин-індукованого ЦД.

Досліди проводили на щурах-самцях масою 120-180 г. Тварини були розділені на 4 групи: *перша* – контроль; *друга* – опромінена синім світлом; *третья* – тварини з ЦД; *четверта* – тварини з ЦД, яких піддавали опроміненню.

ЦД індукували внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоксину (6 мг/100 г). Використовували тварин із рівнем глюкози у крові більше 14 мМ. Опромінення синім світлом (довжина хвилі 470 нм, загальна потужність 150 мВт) проводили починаючи з 14-го дня після індукції ЦД щоденно упродовж 10 днів (тривалість опромінення 5 хв).

У результаті проведеного дослідження не було відмічено вірогідних змін кількості еритроцитів у жодній групі тварин. Натомість вміст ретикулоцитів у крові щурів за умов ЦД зростає у 2,5 рази. Застосування ФБМТ синім світлом зменшувало кількість цих клітин в 1,5 рази порівняно зі значенням у неопромінених тварин із ЦД. За умов ЦД нами показано зниження стійкості еритроцитів цільної крові до дії кислотного гемолітика. Опромінення синім світлом збільшувало тривалість гемолізу та зменшувало кількість максимально прогемолізованих еритроцитів до  $30,87 \pm 1,41$  % порівняно зі значеннями у групі тварин із ЦД ( $40,67 \pm 3,81$  %). Відмічено появу двопікових кривих гемолізу еритроцитів, які були відмиті тричі фізіологічним розчином. Показано, що у контролі відмиті еритроцити гемолізують повільніше порівняно з ЦД. Під час опромінення за ЦД відбувається зниження максимальної частки гемолізованих відмитих від плазми еритроцитів в 1,6 рази порівняно з тим самим показником у неопромінених тварин.

Отже, ФБМТ синім світлом мала позитивний вплив на структурно-функціональний стан мембран еритроцитів щурів за експериментального ЦД, що виявлялось у підвищенні їхньої стійкості до дії кислотного гемолітика.

**Микуцька І.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ІОНІВ  $\text{Co}^{2+}$  НА ЕРИТРОЦИТИ ЛЮДИНИ**

*Донецький національний університет імені Василя Стуса  
вул. 600-річчя, 21, м.Вінниця, 21021, Україна  
mykutska.i@donnu.edu.ua*

**Mykutska I.** INVESTIGATION OF CYTOTOXICITY MECHANISMS OF  $\text{Co}^{2+}$  IONS ON HUMAN'S ERYTHROCYTES. Human red blood cells were incubated for five hours at  $25^\circ\text{C}$  in the oxidizing media, containing  $1.0 \times 10^{-4}$  M ascorbic acid (AscH),  $5 \times 10^{-6}$  M  $\text{Co}^{2+}$ , Na-phosphate buffer (0.015 M, pH 7.4), 0.15 M NaCl. During the experiment the following parameters were recorded: the content of extracellular and intracellular hydrogen peroxide, membrane bound hemoglobin and the its ligand forms, the distribution of ligand forms in the cytoplasmic fraction of hemoglobin, superoxide dismutase and catalase activity of erythrocyte surface and cytoplasmic fraction, the content of glutathione and SH-groups of proteins.

Кобальт (II) входить до складу ціанокобаламіну (вітамін  $\text{B}_{12}$ ), що є необхідним для утворення еритроцитів. Завдяки здатності стимулювати синтез гемоглобіну й еритропоезу  $\text{Co}(\text{II})$  історично використовували для лікування певних типів анемії.

У плазмі крові Co(II) зазвичай зв'язаний з білками. Вільні йони Co(II), завдяки високій здатності до комплексоутворення, можуть легко окиснюватися розчинним киснем і переходити в Co(III), що є сильним окисником. У цьому разі йони Co(II) та Co(III) можуть бути залучені до реакцій утворення активних форм Оксигену (АФО) і окисної модифікації білків клітин. Вільні йони Co(II) можуть давати токсичні ефекти за рахунок взаємодії з низкою біологічних рецепторів і білків, стимулюючи при цьому перебіг різних процесів у клітинах. Мета нашої роботи полягала в дослідженні впливу йонів Co(II) й аскорбату на стан окисно-відновних процесів в еритроцитах і ступеня залученості в ці процеси мембранозв'язаного гемоглобіну.

Еритроцити, відмиті від плазми, розміщували у середовищі Na-фосфатного буферу, що містив  $10^{-6}$  М іонів Co(II),  $10^{-4}$  М аскорбінової кислоти та 0,15 М NaCl. Клітини інкубували у цьому середовищі протягом 5-ти год.

Упродовж часу експерименту визначали вміст поза- і внутрішньоклітинного пероксиду водню, мембранозв'язаного гемоглобіну та його лігандних форм, розподіл лігандних форм у складі цитоплазматичної фракції гемоглобіну, супероксиддисмутазу й каталазу активність поверхні еритроцитів і цитоплазматичної фракції, вміст глутатіону і SH-груп білків.

Показано, що система AscH -  $Co^{2+}$  має прооксидантні властивості.

Екзогенний окисний стрес, обумовлений утворенням АФО в результаті взаємодії іонів  $Co^{2+}$  з AscH, викликає внутрішньоклітинний окиснювальний стрес, який з часом призводить до порушення редокс-балансу еритроцитів. Поступово в еритроцитах знижується вміст глутатіону і SH-груп білків. Через 90 хв від початку експерименту вміст мембранозв'язаного гемоглобіну знижується наполовину. Але він залишається функціонально-активним.

Встановлено, що вміст оксигемоглобіну в мембранозв'язаній фракції корелює зі супероксиддисмутазною активністю. Це реєструється на поверхні клітин. Рівень каталазної активності поверхні еритроцитів змінюється незначно.

Цей факт дає підстави вважати, що функцію захисту еритроцитів від зовнішнього впливу активних форм Оксигену виконує мембранозв'язаний гемоглобін.

#### **Палійчук В., Николайчук І.**

### **БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ЗА УМОВ ДИСБАЛАНСУ МАКРОНУТРИЄНТІВ У ХАРЧОВОМУ РАЦІОНІ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
vasiapaliychuk@ukr.net*

**Paliychuk V., Nykolaichuk I.** BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE KIDNEYS UNDER THE CONDITIONS OF MACRONUTRIENTS IMBALANCE IN THE DIET. The appearance of albumin in the urine of rats was detected under the conditions of macronutrients imbalance, indicating the development of microalbuminuria. At the same time, sucrose overconsumption is a key factor in increasing serum creatinine content in rats while reducing its clearance, and indicates impaired renal filtration capacity.

Адаптаційні зміни, які відбуваються у відповідь на дисбаланс нутрієнтів, досить часто формують загальну ланку патогенезу т. зв. ендогенних, або стресорних захворювань, які розглядаються як захисні компенсаторні реакції і власне патологічні зміни (Мельникова, 2014; Stanhope, 2016). Так, недостатність протеїну в харчовому раціоні значною мірою позначається на тканинах швидкооновлюваних органів (печінки, нирок, селезінки тощо), тоді як надмірне споживання високовуглеводної їжі виступає основним фактором ураження нирок.

Специфічним маркером функціональної здатності нирок у клініко-біохімічній практиці є концентрація креатиніну в сироватці крові та його кліренс, що відображає фільтраційну здатність нирок, оскільки даний метаболіт не підлягає реабсорбції у проксимальних канальцях (Dixon, 2017). У сучасній літературі (Umeres-Francia, 2018) маркером більш ранніх ознак порушення роботи нирок вважається мікроальбумінурія, що є результатом підвищеної втрати альбуміну зі сироватки крові через ендотелій, а це призводить до системної ендотеліальної дисфункції.

Мета даної роботи – оцінити особливості функціонального стану нирок щурів за рівнем креатиніну в сироватці крові та його кліренсом, екскрецією альбуміну зі сечею за умов різного забезпечення харчового раціону протеїном і сахарозою.

Напівсинтетичні раціони для тварин моделювали відповідно до рекомендацій *American Institute of Nutrition* (Reeves, 1993). Контрольна група щурів споживала раціон, збалансований за всіма нутрієнтами. З метою створення аліментарної депривації протеїну щурі отримували низькопротеїновий раціон, що містив 1/3 добової потреби білка (Korylchuk, 2014). Дієту з високим вмістом сахарози моделювали відповідно до рекомендацій (Fernandes-Lima, 2015). 4-та група тварин на тлі нестачі харчового протеїну споживала надмірну кількість сахарози.

Результати проведених нами досліджень показали, що підвищення концентрації креатиніну в сироватці крові щурів із одночасним зниженням його кліренсу спостерігається лише за умов споживання харчового раціону з надлишком сахарози, незалежно від кількості надходження протеїну. Креатинін – це фактично продукт перетворення креатинфосфату в м'язах, який зазвичай виробляється організмом із певною швидкістю, не реабсорбуючись у ниркових канальцях повторно (Jabary, 2006). Тому зниження виведення креатиніну зі сечею за даних експериментальних умов свідчить про зниження клубочкової фільтрації нирок.



Водночас у всіх дослідних групах тварин спостерігається поява альбуміну в сечі, що характеризується розвитком мікроальбумінурії з найвираженішими змінами за умов поєднаної дії двох несприятливих факторів – дефіциту протеїну та надлишку сахарози в харчовому раціоні. У міру збільшення мікроальбумінурії може відбуватися зміна стану подоцитів – високоспеціалізованих клітин фільтраційної системи нирок, унаслідок збільшення в них акумуляції білка, який у надмірній кількості виявляє токсичний ефект.

Отже, за умов дисбалансу макронутрієнтів у харчовому раціоні щурів зареєстровано розвиток мікроальбумінурії. Водночас споживання надлишку сахарози виступає ключовим чинником підвищення вмісту креатиніну в сироватці крові щурів з одночасним зниженням його кліренсу, та вказує на порушення фільтраційної здатності нирок.

**Петрин Т., Нагалєвська М., Сибірна Н.**

#### ЗМІНИ ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ Й ОКРЕМИХ ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЛІПІД-ІНДУКОВАНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
eurusvermeer@gmail.com*

**Petryn T., Nagalievsk M., Sybirna N.** MODIFICATIONS OF LIPID PROFILE AND INDIVIDUAL HEMATOLOGICAL INDICES OF RAT'S BLOOD IN LIPID-INDUCED METABOLIC SYNDROME. The development of metabolic syndrome is characterized by a violation of both lipid and carbohydrate metabolisms, which is accompanied by changes in the hematological parameters of the blood. The established changes may be one of the reasons for the development of cardiovascular diseases that accompany the development of the investigated pathology.

Метаболічний синдром – це симптомокомплекс, що поєднує інсулінорезистентність, гіперглікемію, абдомінальне ожиріння, дисліпідемію й артеріальну гіпертензію. Дієта з високим вмістом жирів ефективна для індукції гіперглікемії, інсулінорезистентності, дисліпідемії та збільшення вмісту вільних жирних кислот у крові.

Зростання кількості вищих жирних кислот призводить до посилення синтезу тригліцеридів і аполіпопротеїну В, на який багаті ліпопротеїни низької щільності. Показано, що надлишок жирів у харчуванні зумовлює збільшення жирової маси, зростання концентрації холестеролу, тригліцеридів, лептину, інсуліну та зниження концентрації ліпопротеїнів високої щільності й адипонектину у плазмі. Вісцеральна жирова тканина є більш метаболічно активною і синтезує значно більшу кількість біологічно активних секреторних білків, таких як інгібітор активатора плазміногену, що сприяє порушенню гемостазу крові.

Мета роботи - проаналізувати зміни окремих показників ліпідного профілю, а також морфологічні зміни клітин крові за індукції метаболічного синдрому високоліпідною дієтою.

Для створення моделі дієт-індукованого метаболічного синдрому після семи днів акліматизації контрольним тваринам згодовували стандартний корм лабораторних тварин (вміст жиру 6,0-6,3 % від загальної маси корму), натомість ліпід-індукований метаболічний синдром викликали споживанням протягом 42 діб дієти, збагаченої ліпідами (вміст жиру досягав 40 % маси корму). На 7, 14, 21, 28, 35 та 42-гу доби здійснювали контроль маси тіла тварин. На 42-гу добу експерименту проводили тест толерантності до глюкози і тварин виводили з експерименту.

Аналізуючи зміну маси тіла тварин за експериментального метаболічного синдрому, встановили зростання маси тіла на 14 і 21-шу добу експерименту, відповідно на 5 і 2,5 % щодо такого приросту в контрольних тварин.

Встановлено, що концентрація тригліцеридів за метаболічного синдрому збільшилася на 26,4 % порівняно з контролем. Розвиток метаболічного синдрому супроводжується зниженням концентрації ліпопротеїнів високої щільності (на 7 %), на фоні зростання концентрації ліпопротеїнів низької щільності (на 53 %). Також було зафіксовано збільшення концентрації загального холестеролу на 75 % щодо тварин, які перебували на стандартній дієті. Розвиток ліпід-індукованого метаболічного синдрому супроводжується зростанням кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну на 17,8 та 99 % відповідно, на фоні зниження кількості ретикулоцитів, що вказує на порушення балансу між утворенням і деструкцією червоних кров'яних клітин. Поряд із цим встановлено збільшення кількості лейкоцитів на 33,6 % і незначні зміни у лейкоцитарній формулі. Встановлені зміни ліпідного профілю та гематологічних показників за метаболічного синдрому можуть лежати в основі розвитку серцево-судинних захворювань, що супроводжують досліджувану патологію.

**Писанчин О., Нагалєвська М., Сибірна Н.**

#### СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ЗА УМОВИ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна  
pysanchyn862@gmail.com*

**Pysanchyn O., Nagalievsk M., Sybirna N.** PROOXIDATIVE-ANTIOXIDANT BALANCE LIVER CELLS UNDER THE CONDITIONS OF METABOLIC SYNDROME. Carbohydrate-induced and lipid-induced metabolic syndrome are accompanied by an increase in the amount of carbonyl groups and changes in antioxidant enzyme activity.

Метаболічний синдром (синдром інсулінорезистентності, синдром «Нового світу», синдром X) – це комплексний стан організму людини, що визначається наявністю патогенетично взаємопов’язаних метаболічних розладів вуглеводного і ліпідного обмінів. Такий стан характеризується порушенням толерантності до глюкози у поєднанні з гіперінсулінемією, підвищенням рівня тригліцеридів, зниженням рівня ліпопротеїнів високої щільності, абдомінальним ожирінням і артеріальною гіпертензією.

Метаболічний синдром супроводжується надпродукцією активних форм кисню, як наслідок порушується функціонування антиоксидантної системи організму.

Центральним органом обміну речовин, у якому інтенсивно відбуваються окисно-відновні реакції, є печінка.

Серед реакцій, які ініціюють вільні радикали, є реакція ланцюгового окиснення ліпідів, що призводить до деструкції клітинних мембран і як наслідок - до руйнування клітин печінки. Однак у нормі в клітинах біорадикали підтримуються на оптимальному рівні завдяки наявності складної системи антиоксидантного захисту, що включає ферменти супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази.

Мета нашої роботи - дослідити стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги клітин печінки за умови метаболічного синдрому.

Для створення моделі дієт-індукованого метаболічного синдрому після семи днів акліматизації контрольні тварини споживали стандартний корм для лабораторних тварин (вміст жиру 6,0-6,3 % загального споживання енергії), а ліпід-індукований метаболічний синдром викликали споживанням упродовж 28 діб дієти, збагаченої ліпідами (вміст жиру досягав 40 % усієї спожитої енергії); джерелом додаткових ліпідів слугувала оливкова олія, багата на мононенасичені жирні кислоти. Натомість вуглевод-індукований (фруктозо-індукований) метаболічний синдром викликали, випоюючи тваринам відповідної групи 10 % розчин фруктози, який тварини споживали замість питної води впродовж 42 діб.

Встановлено, що вуглевод-індукований метаболічний синдром супроводжується зростанням вмісту карбонільних груп в 1,3 разу, а ліпід-індукований – у 6,6 разу, порівняно з контролем.

Розвиток як ліпід-, так і вуглевод-індукованого метаболічного синдрому зумовлював у гомогенатах клітин печінки порушення активності ферментів антиоксидантного захисту. Отже, розвиток метаболічного синдрому супроводжується порушенням прооксидантно-антиоксидантного балансу клітин, що в кінцевому результаті може призвести до порушення функціонування клітин печінки.

**Романов С., Сабадашка М., Сибірна Н.**

#### АНТИОКСИДАНТНИЙ ЕФЕКТ КОНЦЕНТРАТУ ПРИРОДНОГО ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
sergij8romchuk@gmail.com*

**Romanov S., Sabadashka M., Sybirna N. ANTIOXIDANT EFFECT OF RED WINE POLYPHENOL COMPLEX CONCENTRATE UNDER DIABETES MELLITUS.** Modern conception tends to regard diabetes mellitus as a clinic syndrome that is characterized with abnormal levels of glucose with development of various complications. An increase of glucose level is crucial factor that leads to oxidative and nitrate stress and elevation of ROS levels. Red wine extracts contain polyphenol complexes with antioxidant properties that could be used in diabetes mellitus therapy. This study estimates the influence of red wine natural polyphenol complexes concentrate on redox balance in heart tissues in normal and diabetic rats.

Згідно зі сучасною концепцією, цукровий діабет розглядають не як захворювання, а як клінічний синдром, що характеризується аномально підвищеним рівнем глюкози та розвитком хронічних мікрovasкулярних, макроvasкулярних і нейропатологічних змін.

У червоному виноградному вині містяться поліфенольні сполуки, для яких характерна здатність знешкоджувати активні форми кисню й активні форми нітрогену. Завдяки цьому поліфенольні сполуки виноградного вина можуть бути використані у профілактиці чи терапії захворювань, що супроводжуються розвитком оксидативно-нітративного стресу, в т.ч. цукрового діабету.

Мета роботи - дослідити антиоксидантні ефекти концентрату природного поліфенольного комплексу *in vitro* та *in vivo* у серцевому м’язі щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Встановлено, що концентрат природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина відновлює 62,36 % та 78,37 % барвника DPPH порівняно з контролем (тролоксом і кверцетином, відповідно). Доведено, що концентрат природного поліфенольного комплексу коригує вміст карбонільних похідних білків нейтрального й основного характеру, а також продуктів перекисного окиснення ліпідів у серцевому м’язі щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Таким чином, виявлено, що поліфенольні сполуки є ефективними антиоксидантами як *in vitro*, так і *in vivo*, однак механізми їхніх ефектів на прооксидантно-антиоксидантний баланс у серцево-судинній системі варто досліджувати і надалі.

**Самуляк О., Кеца О.**

**ВПЛИВ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО  
СТАНУ НИРОК ЩУРІВ ІЗ ТРАНСПЛАНТОВАНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
olesasatulak25@gmail.com*

**Samuliak O., Ketsa O.** THE EFFECT OF LASER IRRADIATION ON FUNCTIONAL STATE OF KIDNEYS IN RATS WITH TRANSPLANTED GUERIN CARCINOMA. The effect of laser irradiation and growth in the body of Guerin carcinoma on the serum creatinine content in serum and urine as a marker of the functional state of the rat kidney was investigated. Rats were irradiated with a laser diode in the red spectrum (wavelength 650 nm) with a power of 50 mW through the skin into the growth area of the tumor.

It has been shown, that creatinine concentration is increased under the conditions of oncogenesis in the serum of rats, which is a consequence of a decrease in its output from the body. It has been established, that the deliberate action of laser irradiation on tumor tissue reduces its destructive effect on kidney function.

У механізмах дії лазерного випромінювання на організм характерними є зміни у тканинах безпосередньо в місцях опромінення та неспецифічні зміни у всьому організмі, які можуть виявлятися у вигляді різних функціональних порушень рефлекторного характеру. Однак протипухлинний ефект дії лазерного випромінювання залежить від дози опромінення, прямої чи опосередкованої дії на пухлину, тривалості опромінення. Одним із органів, який реагує на ріст в організмі новоутворення та дію лазерного опромінення, є нирки. Сьогодні залишаються актуальними та до кінця не зрозумілими питання механізмів впливу лазерного опромінення на організм-пухлиноносія.

Мета роботи - дослідити рівень креатиніну в сироватці крові та сечі як показник функціонального стану нирок у щурів-пухлиноносіїв за умов впливу лазерного опромінення.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 120-150 г, яких утримували на звичайному харчовому раціоні. Як модель злоякісного новоутворення використовували штаб карциноми Герена. Трансплантацію новоутворення здійснювали шляхом підшкірного введення 0,5 мл 30 % суспензії ракових клітин у фізіологічному розчині в стегно правої кінцівки.

Щурів опромінювали лазерним діодом у червоному діапазоні спектра (довжина хвилі 650 нм) потужністю 50 мВт через шкіру в ділянку росту новоутворення.

Оскільки креатинін – кінцевий продукт розпаду креатину, який синтезується у печінці та надходить до м'язів, звідки вивільняється і транспортується з кров'ю до нирок, то зміни його концентрації в біологічних рідинах можуть вказувати на функціональний стан нирок.

Результати досліджень показали, що в щурів у процесі росту в організмі карциноми Герена зростає вміст креатиніну в сироватці крові з максимальним показником на 21-шу добу росту пухлини (стаціонарна фаза онкогенезу), який у 5 разів перевищує показники інтактних тварин. Підвищення рівня креатиніну в сироватці крові є наслідком зниження його виходу з організму, про що свідчить зниження у 6 разів концентрації цього кінцевого продукту в сечі щурів-пухлиноносіїв порівняно з контролем. Встановлені зміни свідчать про порушення фільтраційної функції клубочкової зони нирок в організмі-пухлиноносії.

У тварин-пухлиноносіїв, яких піддавали дії лазерного опромінення, спостерігається менш виражене підвищення креатиніну в сироватці крові та його інтенсивніше виділення зі сечею порівняно з неопроміненими пухлиноносійми.

Імовірно, лазерне опромінення пухлинної тканини підвищує деструктивні зміни у ній, зумовлює гальмування росту новоутворення і, як наслідок, знижує вплив росту пухлини на віддалені органи, зокрема, на нирки.

Таким чином, ріст в організмі злоякісного новоутворення спричиняє порушення функціонального стану нирок. Цілеспрямоване лазерне опромінення пухлини знижує її деструктивний вплив на функціонування нирок.

**Сорока В., Николайчук І.**

**АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ РЕГЕНЕРАЦІЇ ГЛУТАТІОНУ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ  
ЗА УМОВ НУТРИТИВНОГО ДИСБАЛАНСУ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
soroka-vika98@ukr.net*

**Soroka V., Nykolaichuk I.** THE ACTIVITIES OF GLUTATHIONE REGENERATION ENZYMES IN RATS' HEPATOCYTES UNDER THE CONDITIONS OF NUTRITIONAL IMBALANCE. Excessive sucrose consumption, regardless of the amount of food protein, is a key factor in reducing glutathione reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities. The reduction of these enzymes activities causes the blocking of the first stage of glucose-6-phosphate metabolism in the pentose phosphate cycle. It results in a decrease in the amount of NADPH and, accordingly, of reduced glutathione.

На сьогодні актуальним лишається питання щодо можливих механізмів формування метаболічних змін за умов порушення збалансованості раціону макронутрієнтами. Надмірне споживання легкодоступних вуглеводів (рафінованого цукру, цукрозамінників, солодоців, здобних виробів, енергетоніків тощо) за умов значного дефіциту протеїнів досить часто характеризується виникненням нутритивного дисбалансу (Stanhope, 2016; Gattineau, 2018). Аліментарне перевантаження сахарозою на тлі білкової недостатності може виступати одним із чинників, що сприяє ініціації та прогресуванню метаболічних розладів, зокрема, в печінці.

Відомо, що редокс-стан глутатіонової системи (GSH/GSSG) займає важливе місце в оцінці вираженості розвитку оксидативного стресу. Підтримання вмісту GSH здійснюється за рахунок не тільки синтезу *de novo*, а й активності глутатіонредуктази (КФ 1.8.1.7, ГР), яка відновлює GSSG за наявності NADPH до GSH (Couto, 2016). Необхідний для відновлення глутатіону NADPH генерується в реакціях пентозофосфатного циклу за дії дегідрогенази глюкозо-6-фосфату (КФ 1.1.1.49, Г-6-ФДГ) (Stanton, 2012). Мета роботи – дослідити активності глутатіонредуктази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в гепатоцитах щурів за умов різного забезпечення харчового раціону нутрієнтами.

Модель дослідження передбачала поділ тварин на 4 групи: I – щури, які утримувалися на збалансованому напівсинтетичному раціоні AIN-93 – група контролю (Reeves, 1993); II – щури, які отримували низькопротеїновий раціон (Korylchuk, 2014); III – щури, які перебували на високосахарозній дієті (Fernandes-Lima, 2015); IV – щури, які на тлі аліментарної депривації протеїну споживали надмірну кількість сахарози.

Нами встановлено, що обмежене надходження харчового протеїну супроводжується активацією ГР та Г-6-ФДГ порівняно з контролем.

Враховуючи те, що для рециклізації GSH в клітинах печінки є спряжена система NADPH-глутатіонредуктази – високоспецифічного ензиму щодо GSSG, то, ймовірно, такі зміни спрямовані на підтримання внутрішньоклітинного пулу GSH, синтез якого за умов дефіциту протеїну, як показано попередніми дослідженнями (Копильчук, 2014), суттєво знижується. Водночас споживання надмірної кількості сахарози, незалежно від надходження вмісту екзогенного протеїну, характеризується протилежними змінами активностей досліджуваних ензимів. Зниження ГР-активності на тлі підвищення вмісту GSSG, який використовується ензимом як субстрат, вказує на пряму залежність встановлених функціональних змін від надходження NADPH. Водночас за дефіциту Г-6-ФДГ, виявленого нами, концентрація NADPH знижується, що виступає передумовою зниження концентрації відновленого глутатіону.

Отже, надмірне споживання сахарози незалежно від кількості харчового протеїну є ключовим чинником зниження глутатіонредуктазної та глюкозо-6-фосфатдегідрогеназної активностей, що зумовлює блокування першого етапу обміну глюкозо-6-фосфату в пентозофосфатному циклі, внаслідок чого зменшується кількість NADPH та, відповідно, відновленого глутатіону.

**Сорюк В., Копильчук Г.**

#### ОЦІНКА ЕКЗОКРИННОЇ ФУНКЦІЇ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ РІЗНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ХАРЧОВОГО РАЦІОНУ НУТРИЄНТАМИ

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
07vitaminka13@gmail.com*

**Soriuk V., Kopylchuk H.** ASSESSMENT OF PANCREATIC EXOCRINE FUNCTION UNDER THE CONDITIONS OF DIFFERENT NUTRIENTS SUPPLEMENTATION. Increased of  $\alpha$ -amylase and lipase activities in rats' serum under the experimental conditions are associated with structural and functional disorders of acinar cells of the pancreas.

Сьогодні значна увага дослідників зосереджена на вивченні різних аспектів патології підшлункової залози (ПЗ), яка виступає ключовою ланкою в генезі багатьох синдронопних захворювань (метаболічного синдрому, стеатогепатиту тощо) (Vijayalakshmi, 2013; Takahashi, 2014).

Серед екзогенних впливів, які можуть виявляти негативний ефект на перебіг метаболічних процесів у даному органі, суттєве значення мають стрес і нераціональне харчування. Насамперед це – білково-енергетична недостатність, що зумовлена низкою як аліментарних факторів (недоїдання, переважання в харчовому раціоні протеїнів низької біологічної цінності, соєвих продуктів, вегетаріанська дієта тощо), так і ендогенних (синдроми мальдигестії та мальабсорбції) (Ткач, 2012), а також надмірне споживання легкозасвоєваних вуглеводів (каші швидкого приготування, білий хліб, випічка, фаст-фуд і снеки, солодощі, високовуглеводні гейнери тощо).

У роботах (Ohtsubo, 2014; Tangvarasittichai, 2015) зазначається, що незбалансоване харчування з надлишком або дефіцитом нутрієнтного складу негативно впливає на морфологічний стан екзо- й ендокриноцитів і маніфестується збільшенням або зменшенням рівня ензимів та інсуліну в сироватці крові.

Мета роботи - дослідження активностей  $\alpha$ -амілази та ліпази в сироватці крові щурів за умов різного забезпечення харчового раціону протеїном і сахарозою.

Щоб дослідити вплив надлишку та/або дефіциту макронутрієнтів на особливості функціонування екзокринної ділянки ПЗ, дослідних тварин поділено на 4 групи: 1 – контрольні щури, які споживали повноцінний

напівсинтетичний раціон (Reeves, 1993); 2 – щури, яких утримували на низькопротеїновій дієті (Kopylchuk, 2014); 3 – щури, які отримували високосахарозний раціон (Fernandes-Lima, 2015); 4 – щури, які на тлі дефіциту харчового протеїну споживали надмірну кількість сахарози.

Результати проведених нами досліджень засвідчують достовірне підвищення активностей  $\alpha$ -амілази та ліпази в сироватці крові усіх дослідних груп щурів порівняно зі значеннями контролю. Відомо, що дані ензими є тканинспецифічними, а за умов певних деструктивних ушкоджень інтенсивно надходять у кровоплин.

Щодо активності альфа-амілази, то максимальне підвищення рівня даного ензиму спостерігається за умов надмірного споживання сахарози на тлі аліментарної нестачі протеїну, причому обидва нутрієнтні чинники виявляють однаковий вплив стосовно досліджуваного показника.

Водночас найвираженіші зміни ліполітичної активності (зростання у 5 разів порівняно з контролем) нами зареєстровано саме за умов надмірного надходження легкозасвоюваного дисахариду незалежно від кількості харчового протеїну. Встановлений факт є вірогідним підтвердженням виникнення запальних процесів, що вказує на характерні деструктивні зміни ацинарних клітин, отримані нами під час аналізу гістологічних препаратів підшлункової залози (вакуолярна дистрофія, поява в цитоплазмі жирових краплин, зменшення кількості секреторних гранул).

Отже, підвищення активностей  $\alpha$ -амілази та ліпази в сироватці крові щурів за даних експериментальних умов пов'язані зі структурно-функціональними порушеннями ацинарних клітин підшлункової залози.

### **Спринь Х., Сабадашка М., Сибірна Н.**

#### **ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ АГМАТИНУ ТА КОНЦЕНТРАТУ ПРИРОДНОГО ПОЛІФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ З ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДНОГО ВИНА НА СИСТЕМУ L-АРГІНІН / НІТРОГЕНУ (II) ОКСИД ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
hrystyna.spryn@gmail.com*

**Spryn K., Sabadashka M., Sybirna N. COMPARISON OF AGMATINE AND RED WINE POLYPHENOL COMPLEX CONCENTRATE INFLUENCE ON L-ARGININE / NITROGEN OXIDE SYSTEM UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS.** The introduction of agmatine and red wine polyphenol complex concentrate causes a decrease in  $Ca^{2+}$ -dependent and  $Ca^{2+}$ -independent NO-synthase in diabetes. We have found that the red wine polyphenol complex concentrate has a greater effect on the reduction of the enzyme activity under diabetes compared with agmatine. The concentration of nitrites and nitrates increase in rats with diabetes. The introduction of red wine polyphenol complex concentrate to animals with diabetes causes an increase in the content of nitrites, and the introduction of agmatine causes the accumulation in this organ of an even greater number of stable metabolites of NO.

Цукровий діабет – хронічне ендокринно-обмінне захворювання, обумовлене дією ендогенних (генетичних) та екзогенних факторів, з абсолютною чи відносною недостатністю інсуліну, що супроводжується порушенням усіх видів обміну речовин.

Ендогенний біоамін агматин, продукт декарбоксілювання L-аргініну, може стати основою нових антидіабетичних препаратів, адже здатний індукувати вивільнення деяких пептидних гормонів, зокрема, інсуліну, а також може конкурентно інгібувати NO-синтазу, а отже, регулювати продукцію NO. Також останніми роками з'являється дедалі більше доказів про те, що поліфеноли рослинної їжі, зважаючи на біологічні властивості, є унікальними харчовими добавками та додатковими засобами у терапії цукрового діабету. Природні поліфеноли є потенційними поліфункціональними агентами, які знижують ризик розвитку цукрового діабету і діабетичних ускладнень.

Мета роботи – оцінити вплив агматину та концентрату природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина на активність NO-синтази, вміст нітритів, нітратів у нормі та за умов експериментального цукрового діабету.

За умов експериментального цукрового діабету простежували підвищення активності конститутивних ізоформ NO-синтази у головному мозку порівняно з контролем.

Як за введення агматину, так і за введення концентрату природного поліфенольного комплексу під час цукрового діабету визначено зниження активності NO-синтази. Виявлено зниження активності індукційної NO-синтази за умов цукрового діабету на фоні введення агматину та концентрату природного поліфенольного комплексу.

За умов діабету введення агматину сприяє підвищенню вмісту нітритів і нітратів у клітинах головного мозку порівняно з діабетом. Уведення природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина також сприяє підвищенню рівня нітритів, однак не впливає на рівень нітратів.

Отже, ми виявили, що концентрат природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина виявляє сильніший вплив на активність  $Ca^{2+}$ -залежних та  $Ca^{2+}$ -незалежної ізоформ NO-синтази, а також на вміст нітритів і нітратів.

**Стус Ю., Волощук О.**

**ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У МІТОХОНДРІЯХ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ РАЦІОНУ САХАРОЗОЮ ТА ХАРЧОВИМ ПРОТЕЇНОМ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
youlia.stus41@gmail.com*

**Stus J., Voloshchuk O.** THE INTENSITY OF FREE RADICAL PROCESSES IN RAT LIVER MITOCHONDRIA UNDER THE CONDITIONS OF DIFFERENT DIET SUPPLEMENTATION WITH SUCROSE AND FOOD PROTEIN. The purpose of the study was to investigate the intensity of ROS generation in rat liver mitochondria under the conditions of different dietary supply of sucrose and dietary protein. The most expressed intensification of free radical processes is observed in the mitochondria of the liver of animals, which were kept on a low protein / high sucrose diet. The established fact of intensification of ROS generation can be considered as one of the possible mechanisms of dysmetabolic changes under the conditions of alimentary protein deficiency and excess of easily digestible carbohydrates in the diet.

Незбалансоване харчування - один з найпотужніших чинників перебудови і регуляції метаболізму. Надмірне споживання сахарози і недостатність у раціоні протеїну можуть сприяти індукуванню та прогресуванню метаболічних розладів. Метаболічні процеси в організмі тісно пов'язані з окисно-відновними реакціями, в результаті порушення яких відбувається збільшення продукування активних форм кисню (АФО). Накопичення АФО призводить до підвищення в'язкості, руйнування та набухання мембран мітохондрій, деструкції клітинних структур і формування окисного стресу (ОС), який є результатом дисбалансу між утворенням і знешкодженням АФО. Мета роботи – дослідити інтенсивність генерації АФО ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^{\cdot}$ ) у мітохондріях печінки щурів за умов різної забезпеченості раціону сахарозою та харчовим протеїном.

Щоб оцінити рівень продукування АФО, було відібрано групи тварин, які перебували на раціонах із різною забезпеченістю харчового протеїну та сахарози протягом 28 діб. Визначення вмісту АФО здійснювали спектрофотометрично, зокрема,  $O_2^{\cdot-}$  при  $\lambda=540$ ,  $H_2O_2$  –  $\lambda=540$  нм та  $HO^{\cdot}$  –  $\lambda=532$  нм.

Результати досліджень показали, що у мітохондріях печінки тварин, які перебували на низькопротеїновому раціоні, інтенсивність генерації всіх досліджуваних АФО не відрізняється від показників контролю. Водночас у мітохондріях печінки тварин, які отримували високосахарозний раціон, інтенсивність генерації АФО зростає, зокрема,  $O_2^{\cdot-}$  – у 2 рази,  $H_2O_2$  – в 1,3 рази,  $HO^{\cdot}$  – у 2 рази порівняно з показниками контролю. Ймовірно, надмірне споживання сахарози сприяє посиленій інтенсифікації мітохондріального дихання, наслідком чого стає посилення витоку електронів на молекулярний кисень із подальшим утворенням супероксидного та гідроксильного радикалів, формуванням окисного стресу.

Водночас максимальне продукування АФО спостерігали у тварин, яких утримували за умов низькопротеїнового/високосахарозного раціону, зокрема,  $O_2^{\cdot-}$  – у 4 рази,  $H_2O_2$  – у 1,5 рази,  $HO^{\cdot}$  – у 4 рази порівняно з показниками контролю.

Оскільки мішенями вільнорадикального окислення насамперед є білки та ліпіди, то встановлене нами накопичення АФО, ймовірно, призводитиме до фрагментації й агрегації, зміни первинної, вторинної, третинної структури білків, а також до інтенсифікації процесу перекисного окиснення ліпідів, наслідком чого буде пошкодження мітохондріальних мембран, деструкція крист, набухання та руйнування мітохондрій з подальшим порушенням процесів окисного фосфорилування та формуванням стану енергетичного дисбалансу.

Таким чином, максимально виражена інтенсифікація вільнорадикальних процесів спостерігається в мітохондріях печінки тварин, яких утримували на низькопротеїновому / високосахарозному раціоні. Встановлений факт інтенсифікації генерації АФО може розглядатись як один із можливих механізмів дисметаболических змін за умов аліментарного дефіциту протеїну та надлишку легкозасвоюваних вуглеводів у раціоні.

**Урсатий М., Волощук О.**

**ОКИСНЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ ПРОТЕЇНІВ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО КОДУВАННЯ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ НУТРИЄНТНОГО ДИСБАЛАНСУ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна  
mariaursatyi98@gmail.com*

**Ursatyi M., Voloshchuk O.** OXIDATIVE MODIFICATION OF MITOCHONDRIAL CODING PROTEINS IN THE RAT LIVER UNDER NUTRIENT IMBALANCE. Under conditions of keeping animals on low-protein, high-sucrose and low-protein/ high- sucrose diets, a decrease in the content of SH-groups is observed in all groups of animals, instead of accumulation of carbonyl derivatives in maintained rats on high-sucrose and low-protein/high-sucrose diets. Whereby the most pronounced free radical oxidation of mitochondrial coding proteins is observed under conditions of keeping animals on a low-protein/high-sucrose diet. The established changes may be considered one of the possible mechanisms for violating the power supply under the investigated experimental conditions.

Протягом останніх років проблема метаболічних порушень за умов споживання низького вмісту білка та надмірного споживання легкодоступних вуглеводів набуває особливої актуальності. Встановлено, що незбалансований раціон харчування є одним із провідних факторів ризику формування і прогресування багатьох метаболічних порушень та хвороб. Більшість їх супроводжується розвитком окисного стресу, передумовою формування якого є порушення балансу між утворенням і знешкодженням активних форм Оксигену (АФО). Враховуючи, що основними продуцентами АФО у клітині є мітохондрії, то чутливою мішенню їх ушкоджувальної дії є білки, що кодується мітохондріальною ДНК. Мета нашої роботи – дослідження інтенсивності окислювальної модифікації протеїнів мітохондріального кодування у печінці щурів за умов нутрієнтного дисбалансу.

У дослідженнях використовували чотири групи тварин: I – контроль; II – щури, утримувані на низькопротеїновому раціоні; III – щури, утримувані на високосахарозному раціоні; IV – щури, утримувані на низькопротеїновому/високосахарозному раціоні. Маркери окисної модифікації білків визначали спектрофотометрично.

Результати проведених досліджень продемонстрували, що у тварин, яких утримували на низькопротеїновій дієті, немає посиленого накопичення карбонільних похідних, хоча вміст вільних SH-груп знижується в 1,8 разу порівняно з контролем. Ймовірно, встановлений факт пов'язаний з тим, що саме SH-групи виконують протекторну роль, оскільки їхнє окиснення запобігає необоротному накопиченню карбонільних похідних. Також встановлену залежність можна розглядати як адаптивний механізм, що спрямований на захист білків мітохондріального кодування від ушкодження. Водночас за умов високосахарозного раціону в білках, що кодується мітохондріальним геномом, вміст карбонільних похідних зростає у понад 3,2 разу за одночасного зниження вмісту вільних SH-груп у 2,2 разу. Отримані дані, ймовірно, пов'язані з інтенсифікацією продукування АФО, оскільки в літературі показано, що надмірне вживання сахарози супроводжується формуванням окисного стресу.

Проте максимально виражена інтенсифікація вільнорадикального ушкодження протеїнів мітохондріального кодування спостерігається у тварин на низькопротеїновому/ високосахарозному раціоні, про що свідчить збільшення рівня білкових карбонілів у 3,6 разу та зниження вмісту вільних SH-груп у 2,4 разу, порівняно з контролем. Враховуючи внесок продуктів мітохондріального кодування у підтримання процесу окисного фосфорилування в мітохондріях, встановлена нами окисна модифікація досліджуваних протеїнів, імовірно, буде супроводжуватися порушенням функціонування дихального ланцюга.

Таким чином, максимальне накопичення продуктів окисної модифікації протеїнів мітохондріального кодування спостерігається у тварин, утримуваних на низькопротеїновому/ високосахарозному раціоні.

**Фуртак Х., Кармаш О., Гачкова Г.**

**IN VITRO АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ І ХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО (*GALEGA OFFICINALIS L.*)**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*hrystyna2208@gmail.com*

**Furtak Kh., Karmash O., Hachkova H.** IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CHEMICAL CHARACTERISTIC OF *GALEGA (GALEGA OFFICINALIS L.)* EXTRACT. Diabetes mellitus is a harsh metabolic condition with main characteristic is the development of oxidative stress. Plant extracts often contain natural antioxidants and can be used as antioxidant part of diabetes treatment. Our chloroform fraction of ethanol extract from *G. officinalis* has shown the lack of toxic alkaloids, but the presence of polyphenol compounds. This extract also has demonstrated antioxidant activity, making it suitable for next research.

Цукровий діабет (ЦД) – важке метаболічне захворювання, спричинене порушенням секреції й активності інсуліну, що призводить до хронічної гіперглікемії, яка, в свою чергу, спричиняє довготермінові порушення та пошкодження деяких органів і тканин тіла людини. Однією із основних причин виникнення діабетичних ускладнень є розвиток оксидативного стресу, тому застосування антиоксидантної терапії - дуже важливий компонент комплексної терапії ЦД. Рослини, що містять природні антиоксиданти (зокрема, поліфеноли, флавоноїди й таніни) можуть запобігати генерації АФО і тим сприяти збереженню функцій клітин організму. Перспективною рослиною у плані досліджень антиоксидантних властивостей є козлятник лікарський (*Galega officinalis L.*)

Мета нашої роботи - дослідити антиоксидантні властивості екстракту козлятника в умовах *in vitro* та перевірити його на наявність алкалоїдів і на вміст поліфенолів.

Безалкалоїдну фракцію екстракту козлятника лікарського одержували шляхом настоювання 30 г подрібненої сухої надземної частини рослини у підкисленому до рН 2-3 96 % етиловому спирті протягом 12 год у співвідношенні 1:5 й упарювали у вакуумі за допомогою роторного випарювача LABOROTA 400 за температури +50...+55 °С.

До упареного етанольного екстракту додавали dH<sub>2</sub>O і хлороформ у співвідношенні 1:1, перемішували та центрифугували упродовж 10 хв за 1500 об/хв. Відбирали хлороформну фракцію і упарювали у вакуумі за температури +40...+50 °С до одержання густого екстракту (патент № 96839 від 25.02.2015 р.).

Одержаний екстракт перевіряли на вміст алкалоїдів за допомогою реактивів Бушарда і Майєра. Оскільки характерних осадів під час проведення цих дослідів не виявлено, це свідчить, що екстракт не містить алкалоїдів. Загальний вміст поліфенолів визначали методом з використанням реактиву Фоліна (згідно з Slinkard et al. 1977). Вміст поліфенолів у одержаному екстракті становив близько 284 мкг еквіваленту галоївої кислоти на 1 г екстракту.

Антиоксидантну здатність екстракту оцінювали методом поглинання ABTS-радикалів. Встановлено, що екстракт козятника лікарського має антиоксидантну здатність (близько 49,1 % поглинання ABTS-радикалів), що може бути пов'язане з наявними в ньому поліфенолами, флавоноїдами та іншими біологічно активними сполуками.

Отримана нами хлороформна фракція етанольного екстракту козятника лікарського не містить токсичних алкалоїдів, але має у своєму складі поліфенольні сполуки. Разом з виявленою нами антиоксидантною активністю це робить такий екстракт кандидатом для подальших досліджень на тваринах з метою детального вивчення впливу на про/антиоксидантний баланс організму.

**Alfavitskyi O.<sup>1</sup>, Dzydzan O.<sup>1</sup>, Kucharska A. Z.<sup>2</sup>, Brodyak I.<sup>1</sup>, Sybirna N.<sup>1</sup>**

**EFFECT OF EXTRACTS OBTAINED FROM THE *CORNUS MAS* L. FRUITS ON THE LEVEL OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND OXIDATIVELY MODIFIED PROTEINS IN LEUKOCYTES UNDER CONDITIONS OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES**

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

<sup>2</sup> Wrocław University of Environmental and Life Sciences, C.K.  
25, Norwida, Wrocław, 50-375, Poland  
olichkadz94@gmail.com

In the condition of hyperglycemia in some tissues the metabolic pathways of glucose conversion intensify, which are accompanied by the excess formation of reactive oxygen species (ROS). Interaction of ROS with other high-reacting low molecular weight compounds and biopolymers leads to the development of oxidative stress. Oxidative stress causes impaired DNA structure, enhanced lipid peroxidation, also proteins undergoes oxidative modification with formation of additional carbonyl groups in R-groups of amino acid residues. Antioxidants of natural origin, in particular, vitamins, bioflavonoids, carotenoids, etc. prevent the development of oxidative stress. There are bioactive components in fruits of the cornelian cherry (*Cornus mas* L.), that exhibit a number of biological effects under various pathological conditions (Dzydzan, Bila, Kucharska, Brodyak, & Sybirna, 2019). The extract of red fruits contains iridoids, anthocyanins, flavonols and phenolic acids. Instead, the extract of the yellow fruit does not include anthocyanins but contains more iridoids and phenolic acids. The main iridoid glycoside of yellow and red cornelian cherry is loganic acid. Therefore, the aim of the study was to investigate the effect of loganic acid and extracts of red and yellow fruits of the cornelian cherry on the level of ROS and the content of oxidatively modified proteins (OMP) in leukocytes under experimental diabetes mellitus.

Wistar male rats weighing 140–170 g were used in the experiments. Diabetes mellitus was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (55 mg/kg body weight). Animals of the experimental groups with diabetes were given with extracts of red and yellow fruits of cornelian cherry and loganic acid *per os* at a dose of 20 mg/kg bodyweight for 14 days. The level of ROS was investigated in leukocytes isolated from the peripheral blood of animals using 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCF-DA). OMP content was determined in lysates of leukocytes by the reaction of carbonyl groups with 2,4-dinitrophenylhydrazine.

The level of prooxidants in leukocytes was evaluated using probe H<sub>2</sub>DCF-DA, which diffuses into cells and transformed into a highly fluorescent compound in the presence of ROS. Comparative analysis of fluorescence level in blood leukocyte allowed us to establish a significant (1.5-fold) increase in ROS content under DM compared to leukocytes of the control group. ROS cause the formation of OMP of neutral (OMP<sub>370</sub> – detectable at 370 nm) and basic (OMP<sub>430</sub> – detectable at 430 nm) character. There was a significant increase in the level of OMP<sub>370</sub> and OMP<sub>430</sub> in leukocytes under streptozotocin-induced diabetes. Therefore, the content of marker indicators of oxidative stress increases due to the increase in the level of ROS in the leukocytes of rats with diabetes.

The administration of extracts of red and yellow fruits of cornelian cherry to animals with diabetes led to a decrease in the level of ROS by 1.7 and 1.3 fold, respectively. The extract of the red fruits also caused a significant lowering of the OMP content of neutral character, while the extract of yellow fruits decreases only OMP<sub>430</sub> level. The administration of loganic acid did not show significant changes in ROS content, but the level of OMP of neutral and basic character was significantly reduced compared with leukocytes of untreated diabetic rats. Therefore, the decrease in the content of biomarkers of oxidative stress in leukocytes indicates the antioxidant properties of the extracts of *Cornus mas* L. fruits.

**Bandura Y., Sabadashka M., Sybirna N.**

**INFLUENCE OF NATURAL POLYPHENOL COMPLEX CONCENTRATE FROM RED GRAPE WINE ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN THE SCIATIC NERVE OF RATS**

Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine  
yurabandura98@gmail.com

Today, due to its prevalence and severe complications, diabetes mellitus is one of priority medical and social problems. Diabetes mellitus is accompanied by infectious and chronic inflammatory processes that are difficult to treat.



This disease is accompanied by insulin insufficiency and an increase in blood glycemia, which are the cause of many complications. In diabetes mellitus, extremely elevated amount of reactive oxygen species (ROS) are produced. Under physiological conditions, ROS is neutralized by various non-enzymatic and enzymatic components of the antioxidant system.

The study of enzymatic antioxidants is one of the main diagnostic indicators in diabetes mellitus, so it is important to investigate the effect of various compounds, in particular polyphenol complexes of red wine.

It was found that the administration of red wine polyphenol complex concentrate increased the activity of antioxidant enzymes. The concentrate causes the increase in activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase and glutathione peroxidase in sciatic nerve.

Hence, a natural polyphenol complex of red wine is able to correct oxidative stress caused by type 1 diabetes mellitus and increased the activity of the antioxidant system. Considering the above, the obtained polyphenol complex concentrate can be considered as the basis for new anti-diabetes drugs.

**Formanchuk R.<sup>1</sup>, Mackiv T.<sup>1,2</sup>, Gnatyshyna L.<sup>1,2</sup>, Khoma V.<sup>1</sup>, Martinyuk V.<sup>1</sup>,  
Kozachuk I.<sup>1</sup>, Stoliar O.<sup>1</sup>**

#### OXIDATIVE STRESS RESPONSES OF GASTROPOD MOLLUSK *LYMNAEA STAGNALIS* IN THE EXPOSURES TO ZINC, COPPER AND CADMIUM

<sup>1</sup>Ternopil National Pedagogical University  
2, M. Kryvonis St., Ternopil, 46027, Ukraine

<sup>2</sup>I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
1, Maidan Voli, Ternopil, 46001, Ukraine  
Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

Aquatic pulmonate mollusks demonstrate different adaptive strategies depending on the kind of exposure. Particularly, pond snail *Lymnaea stagnalis* can avoid heavy metals in the exposures to low to moderate concentrations of zinc (Zn, 150  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), copper (Cu, 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and cadmium (Cd, 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Gnatyshyna, 2019) during 14 days. This response was accompanied by the coordinated inhibition of the oxidative stress response, almost independent on the metal nature. The goal of this study was to elucidate the ability of this species, *L. stagnalis*, to withstand the high sublethal concentrations of these metals. The snails sampled in the reference site and adapted to the laboratory conditions were exposed to copper ( $\text{Cu}^{2+}$ , 25  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ , 400  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) or cadmium ( $\text{Cd}^{2+}$ , 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) during 14 days. These concentrations were about three times higher than studied previously (Gnatyshyna, 2019). The characteristics of oxidative stress were analyzed in the soft tissues of mollusk. They included superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities, as well as the level of lipid peroxidation attested from the thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and accumulation of protein injury, detected from protein carbonyls (PCs). Total antioxidant/ABTS radical scavenging activity of tissues was also determined. Metallothionein concentration was detected from the thiol concentration to indicate probable participation of this protein in the oxidative response and/or the accumulation of metals. The cholinesterase (ChE) activity was assayed to analyze the impact on the cholinergic system.

The results revealed that Cd caused the most prominent response of oxidative stress. Only exposure to Cd caused up-regulation of total antioxidant radical scavenging activity (by 11%). It also increased the SOD and CAT activities, and metallothionein concentration. This antioxidant activation can explain the prominent decrease of the PCs concentration (by 1.5 times). However, TBARS production was increased (by 24.5 %). The increase of metallothionein concentration (by 1.5 times) was the most prominent manifestation. This increase is the typical response to Cd toxicity in different species. However, in snails the metallothionein activity is questionable, and the inducing of low weight thiols phytochelatin is more evident (Niederwanger et al., 2017). The exposure to Zn provoked the same manifestations of metallothioneins and PCs as Cd. This similarity can be explained by the common molecular targets of these metals. However, Zn have not changed other studied traits. In opposite, exposure to Cu caused the activation of SOD, CAT (most prominent, by 2.9 times), decrease of PCs concentration but increase of TBARS level. However, total antioxidant activity and metallothionein concentration were not targeted in this exposure. The ChE activity was not changed in any exposures. To summarizing, unlike studied previously effect of low concentrations of Zn, Cu, Cd, when a coordinate inhibition of SOD, CAT, oxyradicals, TBARS and PCs was shown, the applied comparatively high concentrations of metals allowed to show specific and strong responses, particularly to Cd. Further studies will be devoted to the precise investigation of concentration dependent resistance of pond snails to metals.

This work has been granted by Ministry of Education and Science of Ukraine to O. Stoliar (#132B).

**Hertsyk D.<sup>1</sup>, Sabadashka M.<sup>1</sup>, Krychowiak-Maśnicka M.<sup>2</sup>, Sybirna N.<sup>1</sup>**

#### DIABETES-CORRECTING AND ANTIBACTERIAL EFFECT OF RED WINE POLYPHENOLIC COMPLEX

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

<sup>2</sup>University of Gdansk, Intercollegiate Faculty of Biotechnology  
58, Abrahama, Gdansk, 80-307, Poland  
daryna.hertsyk@gmail.com

Polyphenolic compounds are secondary metabolites with wide range of biological activities that are commonly found in plants. Various fruits and vegetables are rich sources of these compounds, *i.a.* blackberries, apples, beans

and grapes. A wide variety of polyphenolic compounds are also found in red wine. Due to their biological activity, in particular blood sugar-lowering, antioxidant effect and immunomodulating properties, polyphenols become very popular among the researchers from all over the world. What is more, the development of drugs based on such compounds is an area of the modern biological studies. The advantage of these drugs is that they are of natural origin, and thus are better for human organism than synthetic analogues.

The main aim of the research was to verify if natural polyphenolic complex of red wine can affect L-arginine/ NO-system of erythrocytes under type 1 diabetes mellitus. The additional goal of the study was to evaluate antimicrobial activity of the complex.

We used streptozotocin-induced diabetes mellitus model in rats to study the state of L-arginine/ NO-system in erythrocytes of animals subjected to the concentrate of red wine polyphenolic complex. What is more, *in vitro* antimicrobial potential of the polyphenolic compounds was also verified by determining their minimal bactericidal concentration (MBC) towards selected bacterial species. The study has shown that natural red wine polyphenolic complex contributes to a decrease of NO-synthase activity and reduction of nitrate-anions level in red blood cells of diabetic rats. The red wine polyphenolic compounds contribute also to lowering the level of nitrotyrosine, *i.e.* one of the markers of oxidative-nitrate stress in the diabetes mellitus. The results of our research have also confirmed the antibacterial potential of the polyphenolic complex towards *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

The results indicate that polyphenolic complex naturally occurring in red wine can correct disorders of L-arginine / NO-system caused by diabetes mellitus, as well as has the antibacterial activity. According to the results, concentrate of natural red wine polyphenolic complex can be considered as a basis for new antidiabetic and antibacterial drugs.

**Kalanova S.<sup>1</sup>, Seniv M.<sup>1</sup>, Moroz A.<sup>1</sup>, Dzydzan O.<sup>1</sup>, Kucharska A. Z.<sup>2</sup>, Brodyak I.<sup>1</sup>, Sybirna N.<sup>1</sup>**

EFFECT OF EXTRACT OF RED FRUITS OF CORNELIAN CHERRIES (*CORNUS MAS L.*)  
ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT DEFENCE ENZYMES IN RAT'S RED BLOOD CELLS  
WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

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

<sup>2</sup> Wrocław University of Environmental and Life Sciences, C.K.  
25, Norwida, Wrocław, 50-375, Poland  
sova.svta@gmail.com

Diabetes mellitus (DM) is a range of metabolic disorders, characterized by abnormally high level of glucose in blood stream, called hyperglycemia. This state is also accompanied by augmented production of reactive oxygen species, which are extremely deleterious for cell's metabolism. Some specific antioxidant enzymes normally help prevent free radical-induced cell damage. But, in conditions of DM reactive oxygen species can damage cellular structures such as DNA, lipids, proteins, including enzymes. Therefore, there is a necessity to find medicines that could decrease an excessive glucose level and simultaneously could counteract the increase in reactive oxygen species amount. Analyzing the scientific data and component composition of the potential plants that can be exert favorable effect during diabetes treatment we chose *Cornus mas L.* The main aim of this work was to study the effect of extract from red fruits of *Cornus mas L.* on the antioxidant defence enzymes in red blood cells in conditions of DM.

The experiments were conducted with Wistar male rats weighting 140–170 g. Diabetes mellitus was induced by injection of Streptozotocin (55 mg/kg body weight) dissolved in 10 mM citrate buffer. On the 10<sup>th</sup> day after diabetes was manifested, the rats were orally injected with aqueous solutions of extracts from red cornelian cherry at a dose of 20 mg/kg body weight during 14 days. We measured the activity of enzymes of antioxidant defence system, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), in rat's red blood cells spectrophotometrically.

According to our results, the activity of key antioxidant defence enzymes is reduced under diabetes: SOD (59 %), CAT (60 %) and GPx (35 %) compared to control. The administration of red cornelian fruit's extracts to animals with DM lead to increase in activity of SOD (by 31 %), GPx (by 35 %) and CAT (by 70 %) compared to non-treated diabetic group. We can make an assumption that extracts from red fruits of cornelian cherry demonstrate favorable effect on erythrocytes under condition of diabetes-caused oxidative stress. Such effect may be explained by presence of active components, such as polyphenols and iridoids in the extract, which may decrease a toxicity of reactive oxygen species.

**Khoma V.<sup>1</sup>, Martinyuk V.<sup>1</sup>, Mackiv T.<sup>1,2</sup>, Lushchak L.<sup>1</sup>, Gnatyshyna L.<sup>1,2</sup>, Stoliar O.<sup>1</sup>**

BIOCHEMICAL RESPONSES OF BIVALVE MOLLUSK IN THE SINGLE  
AND COMBINE EXPOSURES TO *ROUNDUP*

<sup>1</sup>Ternopil National Pedagogical University  
2, M. Kryvonis St. Ternopil, 46027, Ukraine

<sup>2</sup>I.Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
1, Maidan Voli, Ternopil, 46001, Ukraine  
Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

Glyphosate, the modified amino acid and organophosphonate compound, N-(phosphonomethyl) glycine, is the most sprayed and most used herbicide in the world. Despite known genotoxicity, its biochemical effects are studied scantily (Matozzo et al., 2018). The modelling of real-life exposures to diverse confounding factors is the

necessity approach in the evaluation of the environmental impact. Therefore, the goal of this study was to evaluate biochemical responses to commercial formulation of glyphosate, Roundup, alone and in the combinations with other typical environmental confounding factors, in the exposures *in vivo* and apply the exposure *ex vivo* for the express evaluation of the effect of Roundup. Bivalve mollusks represent the suitable model organisms for these experiments. We treated the mussels *Unio tumidus* with the mix of glyphosate (formulation Roundup MAX (Rn, 33.8  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and popular antidepressant drugs aminazine (Am, 18.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Rn+Am), to Rn and Am separately at the temperature 18 °C (positive controls), and to Rn at the 25 °C (Rn+T) during 14 days. In exposures *ex vivo*, the gills and digestive gland tissues of *U. tumidus* were exposed to a range of concentrations of Rn (13.3, 26.7, 66.8 and 133.6  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) during 2 h at 20 °C followed by 15 h at  $\sim 2-4$  °C. Markers of oxidative injury (total antioxidant activity, end-products of lipid peroxidation (TBARS) and protein carbonyls (PC)), cellular low weight thiols GSH/GSSG and metallothionein (MT-SH), and cholinesterase (ChE) activity as the index of neurotoxicity were analyzed.

In the *ex vivo* experiment, the lowest concentrations of Rn caused the most prominent changes of the indices: the decrease of MT-SH concentration (by about two times) and ChE activity (acute toxicity). The total antioxidant activity was decreased substantially in all exposures correspondingly to the decrease of MT and/or GSH concentrations. However, the levels of TBARS and PC were not changed compare to control detecting the early stage of the injury. This study confirms the suitability of the Rn concentration selected for the *in vivo* experiment. All Rn contained exposures of mollusks (Rn, Rn+Am, Rn+T) caused the substantial increase of MT-SH concentrations (by 57 % in the Rn+T group). The GSH concentration was increased in all exposures (by 75 % in the Rn+Am group) with the increase of GSH/GSSG ratio in all exposures, except Rn. Activation of cellular thiols was corresponding to the up-regulation of the total antioxidant activity in all groups (by 50 % in Am group) except Rn group. The levels of TBARS and PC were increased significantly but not substantially with few exceptions (Rn+T group for TBARS and Rn group for PC). The depletion of ChE was not detected in any exposure, and Rn even increased by 33 %.

The comparison of the results of *ex vivo* and *in vivo* exposures indicates the sensitive but opposite responses of the cellular thiols and total antioxidant activity to Rn. The antioxidant potential of Am was confirmed in this study partially due to GSH increase. The accumulation of the oxidative injury was observed only after the long-term exposure of the organism to Rn, Am and their combinations. Consequently, despite the sensitivity of mollusk responses in both experimental designs, the exposure *in vivo* provide more realistic understanding of the ability of the organism to withstand environmental impact of xenobiotics than *ex vivo* exposure.

This work has been granted by the award of Ministry of Education and Science of Ukraine to Oksana Stoliar (Projects M/35-2018 and 132B).

**Kyriachenko Y., Udovychenko I., Raksha N., Halenova T.**

#### COMPARISON OF COMPOSITION AND BIOLOGICAL EFFECTS OF AMPHIBIAN SKIN SECRETIONS OBTAINED BY EITHER ELECTRICAL OR MECHANICAL STIMULATIONS

*Educational and Scientific Center "Institute of Biology and Medicine"*

*Taras Shevchenko National University of Kyiv*

*64/13, Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine*

*zh01ke10@gmail.com*

Starting an investigation firstly you need to choose the way to extract and collect the raw material for your experiments. There are different methods for collecting amphibian skin secretions to yield samples that are clean/ uncontaminated and tolerant to destruction under operating conditions (Clark, 2013). The types and quantities of chemicals expected in a sample appoint how the samples should be collected. However, some methods reveal to be unethical towards the animals, sometimes even leading to lethal outcomes.

The present study aimed to provide a comparison between the composition and characteristics of skin secrets obtained from *Pelobates fuscus* by electrical or mechanical stimulations.

Twenty adult specimens (both sexes) of *P. fuscus* were collected along the Desna River in Chernigov region, Ukraine. The crude skin secretions from ten frogs were collected after a mild electric stimulation of the dorsal skin region (3-6 V, 10-15 sec). The skin secretions from the others were obtained by an intensive mechanical irritation of head, body and tibia of the animals. Secrets were washed with a small amount of distilled water, centrifuged to remove debris, and lyophilized. The equal amounts of dried material (10 mg per 1 mL) obtained by two techniques were further dissolved in phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.2) and centrifuged at 10000 g for 10 min; the supernatant was collected and used in the study. The concentration of total protein in the samples was measured using the Bradford method. Separation of proteins was done by SDS-PAGE as described by Laemmli. The hemolytic activity was checked using 2 % fresh rabbit erythrocyte suspension incubated with various concentrations of secretions. The amount of hemoglobin released due to erythrocytes lysis was measured spectrophotometrically. Moreover, the influence of the components of skin secretions on platelet aggregation was studied *in vitro* using the photo-optical aggregometer. The proteolytic potential was measured by enzyme electrophoresis and spectrophotometrically using specific chromogenic substrates such as S<sub>2366</sub>, S<sub>2251</sub>, S<sub>2238</sub>, S<sub>2222</sub>.

In case of both methods we got the same amount of dry secretions (12 mg in total). The protein concentration in a solution extracted by electrical stimulation was a little higher that may give an evidence of better solubility of its

protein components. The samples were aligned by protein before running an electrophoresis. Data showed that the band composition of two samples was alike, but the quantitative ratio differed. Both skin secretions exhibited a nearly identical, concentration-dependent tendency to cause hemolysis. The result from the aggregation assay indicated that components of mechanically and electrically collected samples induced platelet aggregation in rabbit PRP. Interestingly, secretions alone didn't exhibit the proteolytic activity, whereas they significantly promoted plasma proenzymes activation.

According to the obtained results, biological effects of components of *P.fuscus* skin secretions collected by mechanical and electrical irritations are similar, consequently proving that scientists should prefer using mechanical gland's stimulation, as a less harmful for animals, in their studies.

**Opryshko M.<sup>1</sup>, Maryniuk M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>,  
Buyun L.<sup>1</sup>, Honcharenko V.<sup>3</sup>, Prokopiv A.<sup>3,4</sup>**

DOSE-DEPENDENT ASSESSMENT OF THE POSSIBLE ANTIOXIDANT EFFECTS OF EXTRACTS DERIVED FROM LEAVES OF *FICUS ELASTICA* ROXB. EX HORNEM. AND ITS CULTIVARS

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

<sup>3</sup>Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005, Ukraine

<sup>4</sup>Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine

The Moraceae plant family includes *Ficus* L. as one of the main genera with biological activities already depicted such as antioxidant (Oliveira et al., 2010; Phan et al., 2012; Ondua et al., 2019), anticancer (Wang et al., 2008; Mbosso et al., 2012, 2015, 2016), antimicrobial (Aref et al., 2010; Mbosso et al., 2012, 2015, 2016), antiulcer (Galati et al., 2001; Chandrasekar et al., 2010; Antony et al., 2013), anti-diarrhoeal (Mandal and Kumar, 2002; Yadav et al., 2015), anti-pyretic (Rao et al., 2002; Ahmed and Urooj, 2010), antiplasmodial (Muregi et al., 2003; Kubo et al., 2016; Teinkela et al., 2018), and gastroprotective (Rao et al., 2008; Sabiu et al., 2016).

*Ficus elastica* Roxb. ex Hornem. is a large monoecious evergreen (rarely deciduous) tree up to 30 m tall. The species is considered to naturally originate from NE India, Myanmar, Malay Peninsula, Sumatra, and Java, but is also commonly cultivated in that area and throughout the world. It belongs to those species known as hemi-epiphytes, which start life as an epiphyte in the crown of another tree and then send roots down to the ground enveloping the trunk of the host tree. Although usually occurring in forests, this species can also grow as a terrestrial tree or shrub in dry habitats such as cliffs and limestone hills. Its glabrous coriaceous spirally arranged leaves reach 10–40 cm in length and 5–22 cm in width; they are elliptic to oblong with acuminate apex and cuneate to obtuse or rounded base. The pedunculate glabrous figs of 1–1.5 cm in diameter are born axillary or just below the leaves, in pairs or solitary, and turn yellow at maturity (Berg and Corner, 2005). The latex of *F. elastica* showed significant antischistosomal activity (Seif el-Din et al., 2014). Leaf extract of *F. elastica* is employed as a diuretic agent besides treating skin infections and allergies (Phan et al., 2012). Standardized extracts of *F. elastica* could be used in traditional medicine for the treatment of wounds and other topical infections (Mbosso et al., 2012). Mbosso Teinkela and co-workers (2018) revealed *in vitro* cell-growth inhibition activities by methanolic extract of *F. elastica* against *Plasmodium falciparum* strain 3D7 and *Trypanosoma brucei brucei*, as well as against HeLa human cervical carcinoma cells. At the 25 µg/mL concentration, the extract of *F. elastica* exhibited plasmodiacidal activity (IC<sub>50</sub> value of 9.5 µg/mL) and trypanocidal (IC<sub>50</sub> value of 0.9 µg/mL) activity. Extract presented low cytotoxic effects on the HeLa cancer cell line (Mbosso Teinkela et al., 2018).

The current study aimed to assess possible antioxidant effects of extracts derived from leaves of *F. elastica* and its cultivars (*F. elastica* 'Rubra', 'Robusta', 'Burgundy', 'Variegata') using oxidative stress biomarker [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as a biomarker of lipid peroxidation] using of human erythrocytes' model after incubation with plant extracts in two doses (5 mg/mL and 0.5 mg/mL).

The leaves of *F. elastica* and its cultivars were collected in M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine) and Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv (Lviv, Ukraine). The whole collection of tropical and subtropical plants at M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine) and Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv (Lviv, Ukraine) (including *Ficus* spp. plants) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine.

Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in proportion 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -20°C until use. Blood (10–20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture (4 males and 5 females aged 28–53-years old). The Research Ethics Committee of Regional Medical Chamber in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4 °C were used within 6 h of sample preparation. An erythrocytes' suspension at 1 % hematocrit was incubated

with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) (control) and pre-incubated with the extracts (5 mg/mL and 0.5 mg/mL) at 37 °C for 60 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 37 °C. For positive control, phosphate buffer was used. Erythrocytes' aliquots were used in the study.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyshnikov (2004) method for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration. The  $\mu\text{mol}$  of MDA per L was calculated using  $1.56 \cdot 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  as the extinction coefficient.

The mean  $\pm$  S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the total antioxidant capacity level (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Kruskal–Wallis  $H$  test (Zar, 1999). All statistical calculations were performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Our results revealed that treatment of human erythrocytes by extracts derived from *leaves of F. elastica* and its cultivars 'Rubra' and 'Burgundy' in dose 0.5 mg/mL caused the statistically significant decrease of TBARS level by 27.3 % ( $p < 0.05$ ), 32.4% ( $p < 0.05$ ), and 33.5% ( $p < 0.05$ ), respectively. The increase TBARS level was observed after the treatment of human erythrocytes by extracts derived from *leaves of F. elastica* 'Robusta' and 'Variegata' (by 12.3% and 9.3%,  $p > 0.05$ , respectively) compared to untreated controls (phosphate buffer). After treatment of human erythrocytes by extracts derived from *leaves of F. elastica* and its cultivars ('Rubra', 'Burgundy', and 'Robusta') in the dose 5 mg/mL, the increase of TBARS level (by 5.7%, 39.5%, 82%, and 87.5%,  $p < 0.05$ ) was observed. Only extract derived from *leaves of F. elastica* 'Variegata' (5 mg/mL) caused the decrease of TBARS level (by 29.2%  $p < 0.05$ ) compared to untreated controls (phosphate buffer). Among extracts studied (0.5 mg/mL), *F. elastica* 'Burgundy' exhibited the lowest TBARS level (decreased by 33.5%,  $p < 0.05$ ) while in dose 5 mg/mL, *F. elastica* 'Variegata' decrease TBARS level by 29.2% ( $p < 0.05$ ).

Our results demonstrated that the extracts deriving from the leaves of *F. elastica* and its cultivars showed large dose-dependent variations in TBARS levels. The highest TBARS levels were determined for a dose of 5 mg/mL (except *F. elastica* 'Variegata'). These results indicate that the selected plants belonging to the *Ficus* genus could be further investigated for identifying compounds that may be responsible for the observed activities and that may represent new leads in antioxidant drug discovery.

*The authors are grateful to The Visegrad Fund for supporting our study.*

**Tkachenko H.<sup>1</sup>, Kurhaluk N.<sup>1</sup>, Buyun L.<sup>2</sup>, Honcharenko V.<sup>3</sup>, Prokopiv A.<sup>3,4</sup>, Osadowski Z.<sup>1</sup>**

**IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF AQUEOUS EXTRACTS DERIVED FROM LEAVES OF JUVENILE SHOOTS OF *FICUS PUMILA* L. (MORACEAE)**

<sup>1</sup>*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

<sup>2</sup>*M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine*

<sup>3</sup>*Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005, Ukraine*

<sup>5</sup>*Botanic Garden of Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine*

A large number of medicinal plants have been investigated for their antioxidant properties. Natural antioxidants either in the form of raw extracts or their chemical constituents are very effective to prevent the destructive processes caused by oxidative stress (Akinmoladun et al., 2010). In our previous studies, *in vitro* protective effects of extracts obtained from various tropical and subtropical plants against hemolysis, lipid peroxidation, and oxidative damage of proteins in equine erythrocytes were evaluated (Tkachenko et al., 2017-2019; Buyun et al., 2018). In the case of the *Ficus* genus, we have focused on the evaluation of the antioxidant effect of leaf extract obtained from *F. religiosa* L. based on oxidative stress biomarkers using the equine erythrocytes model (Tkachenko et al., 2018). Hence, it becomes necessary to search new sources for noble antioxidants, especially those that would be safe and cheap and thus easily affordable by all populations.

The present study was designed to investigate the oxidative stress biomarkers [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), carbonyl derivatives content of protein oxidative modification, total antioxidant capacity] using the equine erythrocytes' model to evaluate the antioxidant activities of the aqueous extracts of leaves derives from juvenile shoots of *Ficus pumila* L.

*Ficus pumila* is a climbing fig commonly used as an ornamental plant. It is reported to be native to East Asia, specifically South China through to Malaysia, but now it is cultivated in numerous countries around the world (Starr et al., 2003). It was reported that *F. pumila* is a very aggressive vine that rapidly grows on almost any surface, climbing using clusters of adventitious roots that emerge from internodes and sometimes form into an aggregate structure called an adhesive disk or pad (Groot et al., 2003). According to Yong and co-workers (2013), the leaves of this plant have antimicrobial, antileishmanial, and anti-inflammatory effects among many other medicinal benefits. These benefits could be attributed to the wide array of chemicals contained in it (Larbie et al., 2015).

The juvenile leaves of *F. pumila* were collected in M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine). The whole collection of tropical and subtropical plants at M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine) (including *Ficus* spp. plants) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. Plant samples were thoroughly washed to remove all the attached material and used to prepare extracts. Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in proportion 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -20°C until use.

Equine blood samples were stored in tubes with sodium citrate as the anticoagulant and held on the ice until centrifugation at 3,000 rpm for 5 min to remove plasma. The pellet of blood was resuspended in 4 mM phosphate buffer (pH 7.4). A volume of 0.1 ml of the plant extract was added to 1.9 ml of clean equine erythrocytes. For positive control (phosphate buffer) was used. After incubation of the mixture at 37°C for 60 min with continuous stirring, it was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Erythrocyte aliquots were used in the study.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyshnikov (2004) method for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration. To evaluate the protective effects of the extract against free radical-induced protein damage in equine erythrocytes, a carbonyl derivatives content of protein oxidative modification (OMP) assay based on the spectrophotometric measurement of aldehydic and ketonic derivatives in the erythrocytes' suspension was performed. The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNFH) as described by Levine and co-workers (1990) and as modified by Dubinina and co-workers (1995). Total antioxidant capacity (TAC) in the sample was estimated by measuring the 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level after the Tween 80 oxidation (Galaktionova et al., 1998).

All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the parameters (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Mann-Whitney *U* test (Zar, 1999). All statistical calculation was performed on separate data from each individual with STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Our result revealed that the TBARS level was increased by 15.5% ( $p > 0.05$ ) when incubated with an extract derived from leaves of juvenile shoots as compared to untreated erythrocytes. When equine erythrocytes were incubated with the extract obtained from leaves of juvenile shoots, non-significantly decrease both aldehydic and ketonic derivatives of OMP was observed after incubation with an extract derived from juvenile shoots (by 8.18% and 12.5%,  $p > 0.05$ ). The treatment by *F. pumila* leaf extract caused the increase of TAC in erythrocyte suspension when compared to untreated erythrocytes. However, these changes were statistically non-significant.

Several correlations between checked parameters were found. Decreased TBARS level induced the decrease of aldehydic derivatives of OMP in the equine erythrocytes' suspension after *in vitro* incubation with *F. pumila* leaf extract obtained from juvenile shoots ( $y = -15.774 + 1.9995 \cdot x$ ;  $r = 0.5254$ ;  $p = 0.0252$ ;  $r^2 = 0.2760$ ). The ketonic derivatives correlated positively with aldehydic derivatives of OMP ( $y = 2.463 + 1.1215 \cdot x$ ;  $r = 0.6342$ ;  $p = 0.0047$ ;  $r^2 = 0.4021$ ). The increased level of TAC in erythrocytes' suspension after incubation with leaf extract obtained from *F. pumila* positively correlated with TAC level.

We believe, that there are other important aspects in preliminary pharmacological studies of plants that should not be neglected. More than 15,000 angiosperm plant species are dioecious, i.e., having distinct male and female individuals (Seethapathy et al., 2018). The male and female plants also have remarkable differences in ecological adaptability, physiological and biochemical characteristics (Hultine et al., 2016; Li et al., 2016). The allocation of resources between male and female plants is different, and also variation in secondary metabolites is reported among dioecious plants (Li et al., 2016; Seethapathy et al., 2018). However, little is known about the ethnobotany of dioecious species and whether preferences exist in pharmacological investigations for a specific gender of plant samples screened for specific kinds of biological activity.

The results obtained from the correlation between total antioxidant capacity and oxidative stress biomarkers suggested that antioxidant compounds are dominant contributors to the antioxidant activity of the extracts obtained from *F. pumila* leaves. Our future phytochemical screening of leaves also will reveal the presence of various classes of secondary metabolites that have great importance in medicinal chemistry and natural product research for their high antioxidant properties.

*The authors are grateful to The Polish National Commission for UNESCO for supporting our study.*

**Sushko O., Iskra R.**

INFLUENCE OF CHROMIUM AND VANADIUM CITRATE ON LIPID  
COMPOSITION IN THE BLOOD PLASMA OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

*Institute of Animal Biology, NAAS  
38, V. Stus St., Lviv, 79034, Ukraine  
sushko.ola@gmail.com*

The metabolism of lipids, carbohydrates, and proteins is disturbed by diabetes, thus affecting the quality of life and health. Diabetes mellitus characterized by hyperglycemia, which occurs due to insufficient insulin secretion combined or not combined with the deterioration of the hormone's action. Despite the wide choice of modern antidiabetic agents,

the problem of real compensation of diabetes remains unresolved, which justifies the search for and creation of new effective and low-toxic antidiabetic agents. Of considerable interest are the chromium and vanadium complexes.

In experiment, laboratory rats weighing 100 – 120 g were used. The rats were divided into four groups: I – control group, II – rats that were given water with a combined solution of chromium citrate (0.1 µg/mL of water) and vanadium citrate (0.5 µg/mL of water), III – control group with experimental diabetes mellitus (EDM), IV – experimental group, rats with EDM that were given water with a combined solution of chromium and vanadium citrate during 40 days. EDM was induced in the animals from groups III and IV by intraperitoneal administration of 5% solution of alloxan monohydrate (“Synbios”) in the amount of 150 mg/kg of body weight after a 24-h fasting period. Blood plasma of rats was obtained by 10-minute centrifugation of heparinized blood at 300 rpm. Blood plasma (1 cm<sup>3</sup>) was extracted with chloroform-methanol mixture in the ratio of 2:1 (v/v) according to the Folch method. The total amount of lipids was determined by weighing dry sample using a residue gravimetric method (Kates, 1986). The separation of lipids into classes was carried out using thin-layer chromatography on silica gel (silica gel L 5/40 µ, LSL 5/40 µ, Chemapol, Slovakia). Hexane-diethyl ether-acetic acid in the ratio of 70:30:1 (v/v/v) was used as a mobile phase (Kates, 1986).

It was found that the content of total lipids was higher in the blood of rats from group III relative to the animals of group I, which can be explained by the mobilization of lipids from the depot. The combined effect of vanadium and chromium citrate resulted in a slight decrease in the content of total lipid in animals from groups II and IV. It is likely that the positive effect of vanadium and chromium citrate is manifested not directly, but indirectly due to improving the action of insulin, and thus altering the synthesis and breakdown of lipids in animals (Solohub, 2007). The content of phospholipids in plasma was decreased by 18.5 % in intact animals from group II compared with the animals from group I (P < 0.05) due to the combined effect of vanadium and chromium citrates. Animals with EDM from group III had a tendency to increase in the content of phospholipids. It is also known that the synthesis intensity of this class of lipids, and their content in the tissues can also be a kind of indicator that cells compact their membranes to protect themselves from penetration of toxicants through membrane. However, in the blood of diabetic rats from group IV, phospholipid content was decreased by 5.6 % compared to the animals from group III (P < 0.05). The content of non-esterified cholesterol was significantly increased in the rats with EDM from group III by 45.2 % relative to the animals from control group I (P < 0.05). In the diabetic rats from group IV, the cholesterol level was probably reduced by 24.1 % compared to group III. The decrease in the content of unesterified cholesterol in the rats of group IV indicates an increase in the processes of esterification and hydrolysis of cholesterol under the influence of biologically active substances, in this case, chromium and vanadium citrate.

It has been shown that dyslipidemia occurs during EDM, which may be evidenced by an increase in the content of total lipids, non-esterified cholesterol and phospholipids. It has been established that vanadium and chromium citrates can normalize the functioning of individual lipid metabolism units during EDM, especially when combined.

**Svyshch I., Fayura L., Klymyshyn N.**

CHARACTERIZATION OF THE NEW FLAVIN PRODUCT OF *ROSA* GENE OF *STREPTOMYCES DAVAWENSIS* EXPRESSION IN YEAST *KOMAGATAELLA PHAFFII*

*Ivan Franko National University of Lviv  
Hrushevskyyi St., 4, Lviv, 79005, Ukraine  
Isvysch@gmail.com*

Roseoflavin (RoF) is a red pigment, which is produced by *Streptomyces davawensis* and has an antimicrobial activity against Gram-positive bacteria and an antivitamin B2 activities. RoF was found to be active against *Bacillus cereus* and *Micrococcus luteus* (*Sarcina lutea*).

The aim of the work was to obtain the preparations of RoF to achieve the heterologous expression of the key gene of RoF biosynthesis *rosA* *S. davawensis*, encoding N,N-8-Amino-8-demethyl-D-riboflavin dimethyltransferase in *Komagataella phaffii* strain. Early in the department of Molecular Genetics and Biotechnology (Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine) *rosB* and *FMNI* genes (encoding of RoF biosynthetic precursors), and *rosA* gene were transferred into genomes of the yeast strain recipients. The transformed strain *K. phaffii* Y33/*FMNI/rosB/rosA* resulted in accumulation of new red compound present in relatively large amounts in culture medium.

Yeast cells of *K. phaffii* were grown in rich medium (YPD) in Erlenmeyer flasks on a gyro-shaker (220 rpm) at 30 °C during 44 – 48 h. Then, cells were harvested, washed 3 times with sterile H<sub>2</sub>O and incubated during 20 h in cheap mineral medium (YNB). The cells were separated from the culture medium by centrifugation (4.000 rpm, 10 min, 4 °C). Total flavins from the culture media were analyzed by paper chromatography in 0.5 % Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 8.0) according to retardation value (*R<sub>f</sub>*: FMN – 0.50; riboflavin – 0.37; RoF – 0,22) [Juri N, et al. 1987]. Flavin bands were eluted with boiling water and quantified by spectrophotometric analysis at appropriate wavelengths used molecular coefficients of extension [Chapman S, et al. 1999]. Then, flavins were adsorbed on Florisil (60–100 mach) (column 15 x 30 mm) and eluted with gradient of 25 ml of 50 % acetone : H<sub>2</sub>O (1:1). Fractions containing flavin with *R<sub>f</sub>* = 0,22 were pooled and applied to cellulose column (100 x 25 mm) previously washed with H<sub>2</sub>O. Nonadsorbed flavins were eluted by H<sub>2</sub>O. Obtained fractions were analyzed by paper chromatography in 0.5 % Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. Fractions containing only flavin with *R<sub>f</sub>* = 0,22 were pooled and analyzed. Spectra of flavins were recorded between 300 and 600 nm employing Hach Lange DR 6000 UV-VIS spectrophotometer. Absorbance peak at 505 nm corresponding to RoF was detected for the preparation.

To obtain the solid samples of RoF, freeze dryer Alpha 1-2 Id plus A 16/50548, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH (Germany) was used. The optimal RoF lyophilization conditions, namely, the composition of mixture of stabilizing additives (buffering agents, bulking agents, protein stabilizers, and antimicrobial agents) as well as the parameters (temperature regime and duration) of freeze-drying procedure were found. As a result, the solid preparations of RoF were obtained.

The possible application of obtained RoF preparations will be discussed.

**Yunko K.<sup>1</sup>, Khoma V.<sup>1</sup>, Martinyuk V.<sup>1</sup>, Gnatyshyna L.<sup>1,2</sup>, Garasymiv O.<sup>1</sup>, Sahno A.<sup>1</sup>, Stoliar O.<sup>1</sup>**

INTEGRATIVE ANALYSIS OF THE ADAPTATION OF THE BIVALVE MOLLUSKS  
TO THE ENVIRONMENTAL CHALLENGES

<sup>1</sup>Ternopil National Pedagogical University

2, M. Kryvonis St. Ternopil, 46027, Ukraine

<sup>2</sup>I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University

1, Maidan Voli, Ternopil, 46001, Ukraine

Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

Contemporary environmental challenges have complicated nature and include the exposures to moiety of non-pointed xenobiotics in the low micro-/nanomolar concentration each, abnormal temperature fluctuations and so on. Therefore, the novel approaches to the evaluation of the environmental impact on the organism that based on the integrative evaluation of this plurality of adverse effects are developed. The aim of the present study is the application of the Integrated Biomarker Index (IBR) elaborated by Beliaeff and Burgeot (2002) to the evaluation of the health status of native bivalve mollusks from the river sites with different water flow and suspected chemical and thermal impact. These sites were associated with the activities of the hydropower plants (HPPs) of different power, Kasperivtscy mini HPP and Jvanchyk micro HPP in the middle Dniester basin, Ukraine. The mollusk *Unio tumidus* from the mini HPP (reservoir (Ku) and downstream of the dam (Kd)) and micro HPP (upstream (Ju) and downstream of the dam (Jd)) were sampled in two seasons. The activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione *S*-transferase, cathepsin D and caspase-3 were investigated. The concentrations of glutathione (GSH and GSSG), metallothioneins (MT-SH), levels of lipid peroxidation and protein carbonyls, lactate and pyruvate, alkali-labile phosphates (ALP corresponding to vitellogenin concentration), and lysosomal membrane stability were also analyzed. In total, we determined 11 indexes (n) in summer and 13 indexes in autumn from digestive gland, hemocytes (lysosomal integrity) and gonads (ALP).

In the summer, the mollusks from the reservoir (Ku) have demonstrated the typical signs of toxic impact: cholinesterase and glutathione depletion, the highest glutathione *S*-transferase activity, elevated cathepsin D efflux from the lysosomes compare to all other groups. The specimens from the micro HPP had the highest levels of glutathione (Jd) and lipid peroxidation (Ju), lesser Cu,Zn-SOD activity (Ju) than other groups. These unexpected indications of stressful conditions in the groups from micro HPP may derive from the regular oscillations in the water flow regimes and temperature of water. In autumn, Ku-mollusks showed lower cholinesterase, catalase and caspase-3 activities, and metallothionein concentration, but elevated levels of oxidized glutathione and protein carbonyls than the specimens from Kd-group. Concentrations of lactate, pyruvate and ALP, activity of superoxide dismutase and glutathione *S*-transferase, and lipid peroxidation level were similar in both groups in this season. For both HPPs, the responses of upstream and downstream groups were distinct. The calculated IBR/n was 4.17; 3.85; 3.12 and 0.26 for Ku, Kd, Ju, Jd groups correspondingly in summer and 2.17 and 0.29 in the Ku- and Kd-groups correspondingly in autumn. Importantly, the variables of cellular thiols, namely metallothioneins and glutathione were among the most sensitive indexes for the reflecting of inter-site differences. Generally, the worst impact in the reservoir of mini HPP was expected, because this site is located in the low portion of the river, in the area of intense agriculture and recreation activity and have constantly low water flow. However, only the calculation of IBR has given a quantitative basis for the differentiation of the environmental impacts. We suggest that using integrative biological response based on the biochemical markers of bivalve mollusks can be a valid early warning step in assessing combine impact of environmental challenges.

This work has been granted by the award of Ministry of Education and Science of Ukraine to Oksana Stoliar (Projects M/35-2018 and 132B).



**БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН / BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION****Белаєва Я.В.****ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ПАГОНОВОЇ СИСТЕМИ *BEGONIA DREGEI OTTO & DIETR.****Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України  
вул. Тімірязєвська, 1, м. Київ, 01014, Україна*

**Belaeva Ja.** FEATURES OF THE STRUCTURAL SYSTEM CONSTRUCTION *BEGONIA DREGEI OTTO & DIETR.* The *Begonia* genus has more than 1800 species, which have a pantropic distribution, and is one of the ten largest genera of angiosperms. Within the *Begonia* genus, there is a significant morphological diversity, especially of vegetative organs, due to the adaptation to a wide range of environmental conditions. We investigated the peculiarities of the shoot system structure of *B. dregei* in terms of greenhouse culture.

Рід *Begonia* L. (*Begoniaceae* C. Agardh) налічує понад 1800 видів, що мають пантропічне поширення, і входить до складу десяти найбільших родів покритонасінних рослин.

Незважаючи на те, що центром походження роду *Begonia* L. вважають Африку, найбільше різноманіття його представників характерне для Південної Америки та Південно-Східної Азії (Agrens, 1995). Для цих рослин, що живуть в умовах підвищеної вологості тропічного клімату і мають вигляд великих трав, характерною ознакою є відносно слабкий розвиток механічних тканин. Для представників роду характерними особливостями будови пагонової системи є тривале моноподіальне наростання, пазушне положення суцвіть, постійний ріст вегетативних осей, що дало змогу віднести основний структурний тип бегоній до архітектурної моделі (AM) Attims (Фершалова, 2008).

Симподіальне наростання трапляється у бегоній надзвичайно рідко і зазвичай є результатом посттравматичного відновлення. Після видалення апікальної частини ортотропного пагона розвивається одна з базальних бруньок головного пагона. Симподіальне наростання нетравматичної природи у бегоній зазвичай пов'язане зі сезонним ритмом росту і наявністю періоду спокою (Фершалова, 2008).

Головний пагін (пагін формування) – трав'янистий, вузлуватий, потовщений, моноциклічний, багаторічний, до 230 мм заввишки. Напрямок росту – ортотропний, тип наростання – базисимподіальний. Кількість метамерів у пагоні становить від 20 до 27. Довжина міжвузля – від 10 до 60 мм. Зміна довжин міжвузль відбувається за двовершинною кривою.

У нижніх вузлах головного пагона розташовані вегетативні бруньки, які протягом першого року утворюють бічні пагони галуження (збагачення) II порядку. Формування бічних пагонів збагачення відбувається в акропетальному напрямку. Пагони силептичні, практично однакові за розмірами і будовою. Галуження пагона може продовжуватися до V порядку. Пагони галуження складаються з 4–9 метамерів і характеризуються своєрідним розвитком.

Спочатку, протягом місяця, пагони мають вкорочені міжвузля (до 1–2 мм завдовжки), потім міжвузля видовжуються до 30–40 мм. У базальній частині головного пагона утворюється каудекс. У ділянці каудекса на другий рік утворюються пагони формування (пролептичні пагони), що відзначаються інтенсивним ростом, сягаючи 200 мм. Вони ростуть удвічі швидше порівняно з пагонами збагачення та разом із головним пагоном утворюють додаткові скелетні осі.

Листкорозташування чергове. Листок черешковий, трав'янистий, простий, асиметричний, гладенький, голий, розсічений. Листки серединної формації до 40 мм завдовжки та до 21 мм завширшки. Адаксіальна поверхня має світло-зелене забарвлення, абаксіальна – червонувате. Черешок короткий (до 16 мм завдовжки), тонкий (діаметр 0,5 мм), циліндричний, припіднятий, бурого кольору. В апікальній частині головного пагона і пагонів галуження із верхніх 2–3 генеративних бруньок утворюються пазушні суцвіття.

Отже, пагонова система *B. dregei* представлена головним пагоном формування, бічними пагонами галуження: пагонами формування та пагонами збагачення. Разом із головним пагоном пагони формування утворюють додаткові скелетні осі.

**Білівська В.Ю.****ФЕРТИЛЬНІСТЬ ПИЛКУ *SALVIA NUTANS* L. (*LAMIACEAE*) В УМОВАХ НПП «ПОДІЛЬСЬКІ ТОВТРИ»***Кам'янець-Подільський національний університет імені Івана Огієнка  
вул. Огієнка, 20, м. Кам'янець-Подільський, 32301, Хмельницька область, Україна  
viktoryabilivska@gmail.com*

**Bilivska V.** FERTILITY POLLEN OF *SALVIA NUTANS* L. (*LAMIACEAE*) IN THE CONDITIONS OF NATIONAL PARK «PODILSKY TOVTRY». A palynomorphological study of *Salvia nutans* L. in the territory of the national park «Podilski Tovtry» was conducted. The paper presents the findings on the results of the study of the general characteristics of pollen grains of *Salvia nutans* L. and determination of their ability to fertilize.

Паннонсько-понтічний вид *Salvia nutans* L. (*Lamiaceae*) поширений у Південній, Середній і Східній Європі. У деяких країнах Європи є рідкісним ендемічним видом, в Україні для кількох адміністративних

територій *S. nutans* є регіонально рідкісним видом. Трав'яний полікарпік, гемікриптофіт. Мезотроф, ксерофіт, геліофіт. Зростає на вапнякових і крейдових відслоненнях. У рослинному покриві місцями домінує та може утворювати аспекти (Клоков, 1960; Кондратюк, 1985).

Цвіте з кінця травня до початку липня (Куприянова, Алешина, 1978).

Вид значно поширений на території НПП «Подільські Товтри». Вивчення загальних особливостей будови пилкових зерен (п. з.) *S. nutans* і визначення їхньої здатності до запліднення в подальшому дасть змогу проаналізувати особливості розмноження виду в природних умовах.

Польові дослідження виду в природних і лабораторних умовах проводили впродовж 2018-2019 рр. Відбір пилку здійснювали із непошкоджених рослин у суху погоду, на піку цвітіння рослин в умовах ботанічного заказника «Устянський» (НПП «Подільські Товтри»). Аналіз рівня фертильності пилку здійснювали з використанням йодного методу (Алексеева, 2012), підрахунок пилкових зерен проводили у 20 полях зору при збільшенні мікроскопа у 10x40 разів. Обробку результатів виконували загальноприйнятими статистичними методами (Шмидт, 1984).

П. з. *S. nutans* майже кулясті, злегка приплюснуті на полюсах, 6-борозні, з полюса 6-лопатеві, з екватора еліптичні. Борозни вузькі, краї нерівні та загострені на кінці, мембрана зерниста, іноді борозни закриті кришечкою.

Скульптура екзани сітчаста, потоншена біля борозен. Колір пилку світло-жовтий (Куприянова, Алешина 1978). Розміри п. з.: полярна вісь – 28,8-32,4 мкм, екваторіальний діаметр – 30,0-32,4 мкм.

Результати дослідження фертильності пилку показали, що під впливом дії йодного розчину у фертильних п. з. досліджуваного виду цитоплазма і спермії набули світло-коричневого та коричневого кольору, а стерильні п. з. майже не забарвились, оскільки не містили крохмалю або мали його сліди.

Встановлено, що для пилкових зерен *S. nutans* характерні досить високі показники фертильності – середній відсоток становить 94 %. Коефіцієнт стерильності пилку – 4,5 %.

Таким чином, пилку *S. nutans* властива досить висока здатність до запліднення, що, ймовірно, оптимально впливає на чисельність популяцій.

#### **Бойчук С., Буджак В.**

#### **НОВЕ МІСЦЕЗРОСТАННЯ *MUSCARI BOTRYOIDES* (L.) MILL. (*ASPARAGACEAE*) В УКРАЇНІ**

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Федьковича, 11, м. Чернівці, 58022, Україна  
svitlanabojchuk95@gmail.com

**Boichuk S., Budzhak V. NEW LOCALITY OF *MUSCARI BOTRYOIDES* (L.) MILL. (*ASPARAGACEAE*) IN UKRAINE.** The distribution of *M. botryoides* in Ukraine and in the world is described. The information about new locality of the species in Ukraine is reported. New locality was found in 2019 near Podillia village, Halych district, Ivano-Frankivsk region. Coenotic characteristics of the population habitat are presented.

*Muscari botryoides* (L.) Mill. – гадюча цибулька греноподібна, представник родини *Asparagaceae* Juss. – багаторічна трав'яниста рослина, цибулинний геофіт з ефемероїдним феноритмотипом розвитку.

Поширена в країнах Кавказу, Закавказзя, Центральної та Південно-Східної Європи (Pinar, Fidan, Eroğlu, 2018). Для України це рідкісний ендемічний таксон, який перебуває на північно-східній межі ареалу та занесений до 3-го видання «Червоної книги України» (2009) з природоохоронним статусом «зникаючий» (Червона книга України, 2009).

Загалом зареєстровано сім підтверджених місцезростань *M. botryoides* в Івано-Франківській, Чернівецькій і Закарпатській областях (Бойчук, 2019).

Вид має високу екологічну пластичність: виростає в світлих ксеротермних дібровах, на узліссях, у вторинних лісових ценозах, у степах, на альпійських і субальпійських луках, вологих і заболочених місцях, на карстових відслоненнях (Pinar, Fidan, Eroğlu, 2018; Новиков, 2006).

Під час польового сезону 2019 р. нами виявлено нове місцезростання *M. botryoides* на території урочища «Щовби», яке розташоване неподалік с. Поділля Галицького району Івано-Франківської області.

Лучно-степове угруповання за участі виду займає середню частину схилу північної експозиції крутизною 10-15°. Особини *M. botryoides* розміщені кантагіозно-дифузно на ділянці площею 150 м<sup>2</sup>. Загальне проективне покриття становить 100 %. Домінуючими видами є *Brachypodium pinnatum* (L.) P. Beauv., *Securigera varia* (L.) Lassen та *Geranium sanguineum* L. з проективним покриттям 25 %, 15 % та 10 % відповідно. У складі угруповання також трапляються: *Trisetum flavescens* (L.) P. Beauv. – 7 %, *Festuca pratensis* Huds. – 7 %, *Potentilla alba* L. – 7 %, *Agrostis capillaris* L. – 5 %, *Galium album* Mill. – 5 %, *Knautia maxima* (Opiz) Ortmann – 5 %, *Leucanthemum vulgare* Lam. – 5 %, *Dactylis glomerata* L. – 3 %, *Briza media* L. – 3 %, *Agrostis vinealis* Schreb. – 3 %, *Poa angustifolia* L. – 3 %, *Muscari botryoides* (L.) Mill. – 1 %, *Trifolium rubens* L. – 1 %, *Astrantia major* L. – 1 %, *Salvia pratensis* L. – 0,5 %, *Plantago media* L. – 0,5 % та ін.

Зібрані гербарні зразки зберігаються в гербарних фондах Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (CHER).

Таким чином, нами підтверджено наявність популяції *M. botryoides* у Галицькому районі Івано-Франківської області й уточнено її хорологічну характеристику.

Для встановлення стану та динаміки зазначеної популяції необхідно проводити подальший моніторинг виявленого місцезростання.

**Войтович М.<sup>1</sup>, Гончаренко В.<sup>1</sup>, Цьома І.<sup>2</sup>**

АДВЕНТИВНА ФЛОРА ЗАПЛАВ РІЧОК СОЛОКІЇ ТА РІЧИЦІ (ЛЬВІВСЬКА ОБЛ.)

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

vojtovicmaria0906@gmail.com

<sup>2</sup>Белзький ОЗЗСО І-ІІІ ступенів Сокальського району Львівської області<sup>2</sup>

пл. України, 26А, м. Белз, 80062, Сокальський район, Львівська обл., Україна

**Voitovych M., Honcharenko V., Tsoma I.** ALIEN FLORA OF FLOODPLAIN RIVERS SOLOKIIA AND RICHYTSYA (Lviv Region). The variety of adventitious species in the flora of floodplain of Solokia and Richytsia rivers was investigated. 27 adventitious species were found. Division by the time and method of spreading and by the degree of naturalization was developed.

Одним із наслідків негативного впливу діяльності людини на природні флори планети є їхнє біологічне забруднення видами адвентивних рослин. Проникнення та закріплення заносних видів рослин веде до витіснення місцевих видів флори і становить безпосередню небезпеку існуванню ендемічних видів.

Проблеми, пов'язані із загрозою поширення видів адвентивних рослин, знайшли своє відображення в «Конвенції про біологічне різноманіття» (Конвенція ..., 1995), яка висуває рекомендації щодо контролю або знищення таких видів (Мосякін, 1998).

Враховуючи важливу роль видів заносних рослин у сучасному флорогенезі різних регіонів і недостатнє вивчення цього питання для території заходу України, дослідження адвентивної флори набуває особливої актуальності. Водночас слід зазначити, що як флора загалом, так і адвентивна флора заплав річок Солокії та Річиці й до цього часу залишається недостатньо визначеною. Спеціальних робіт, що в узагальненому та систематизованому вигляді відображають особливості адвентивної фракції флори регіону, практично немає. Тому виявлення адвентивних видів флори заплав річок Солокії та Річиці є актуальним завданням.

У результаті проведених досліджень у флорі заплав річок Солокії та Річиці нами виявлено 27 адвентивних видів, які належать до 14 родин. Найпоширенішими видами є *Galinsoga parviflora* Cav., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Lamium album* L., *Amaranthus retroflexus* L. Найменш поширені – *Juncus tenuis* Willd, *Heliantus tuberosus* L., *Eloдея canadensis* Michx.

Вид *Heracleum sosnowskyi* Manden. сьогодні інтенсивно поширюється і виявляє високу інвазійну здатність.

Серед виявлених адвентивних видів за часом занесення 16 видів є кенофіти, 9 – археофіти, 2 – еунеофіти. За способом занесення 20 видів є кенофіти, 6 видів – ергазіофіти, а 1 вид є аколотофітом. За ступенем натуралізації 17 видів є епекофіти, 5 видів – агріоепекофіти і 5 видів – агріофіти. Серед адвентивної флори заплав річок Солокії та Річиці виявлено 10 видів бур'янів, 17 видів лікарських рослин, 4 види рослин – небезпечні для людини, 3 види рослин використовують у декоративних цілях і 3 види – як кормові культури. Під час дослідження географічного походження адвентивних видів даної території з'ясовано, що в заплавах річок Солокії і Річиці переважають види північноамериканського походження.

Вивчення адвентивних видів є необхідним, адже вторгнення в екосистему чужорідних видів приводить до витіснення природної флори регіону.

Дослідження адвентивної флори заплав річок Солокії та Річиці відображають стан адвентивної флори досліджуваної території, і їх варто продовжувати в подальшому.

**Гавриш П., Мешков Я.**

НОВІ ВІДОМОСТІ ПРО ГРИБИ ЧОРНОМОРСЬКОГО БІОСФЕРНОГО ЗАПОВІДНИКА

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна

havrysh.polina@gmail.com

**Havrysh P., Mieshkov Ya.** NEW DATA ABOUT FUNGI OF CHORNOMORSKYI BIOSPHERE RESERVE. Information about 35 species of fungi from Chornomorskyi reserve, collected in May 2013, is presented. Some species are registered in Ukraine for the first time.

Чорноморський біосферний заповідник створений у 1927 р. з метою збереження й охорони унікальних природних комплексів Причорномор'я із ліською, лучною, болотною, водною, степовою та галофітною рослинністю. Доволі екстремальні природно-кліматичні умови регіону в комбінації з різноманітним рослинним покривом дають підстави очікувати на цікаві знахідки грибів.

Видовий склад грибів Чорноморського заповідника почали досліджувати у 1970-ті рр. ХХ ст. вчені з Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАНУ, а згодом О.В. Корольова. Дотепер найбільшу увагу мікологи

приділяли вивченню фітотрофних грибів заповідника, і, меншою мірою, базидієвих макроміцетів. Станом на цей час подальше вивчення грибів заповідника лишається актуальним.

Матеріали нашої роботи ґрунтуються на результатах опрацювання зразків, що були зібрані на початку травня 2013 р. О.Ю. Акуловим у ході експедиції до Чорноморського біосферного заповідника (Солоноозерна ділянка, Голопристанський р-н, Херсонська обл.). Визначення зразків проводили на кафедрі мікології та фітоімунології ХНУ за допомогою світлової мікроскопії з подальшим включенням їх до наукового мікологічного гербарію CWU (Мус).

У результаті проведеної роботи нами було виявлено 35 видів грибів, із яких 26 є представниками відділу Ascomycota, а 9 – представниками Basidiomycota. На березі зареєстровано види: *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schröt., *Diatrypella favacea* (Fr.) De Not., *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Hypoxylon rubiginosum* (Pers.) Fr., *Melanconis stilbostoma* (Fr.) Tul. & C. Tul. у стадії анаморфи *Melanconium bicolor* Nees, *Ophiostoma* aff. *bicolor* R.W. Davidson & D.E. Wells, *Peniophora cinerea* (Pers.) Cooke, *Phlebia tremellosa* (Schrad.) Nakasone et Burds., *Pseudovalsa lanciformis* (Fr.) Ces. & De Not. з анаморфою *Coryneum lanciforme* (Fr.) Voglmayr & Jaklitsch, *Splanchnonema argus* (Berk. et Broome) Kuntze в стадії *Muxocyclus polycystis* (Berk. et Broome) Sacc., *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers., *Taeniolina scripta* (P. Karst.) P.M. Kirk і *Trimmatostroma betulinum* (Corda) S. Hughes. На вербі: *Neofusicoccum ribis* (Slippers, Crous & M.J. Wingf.) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips та *Trimmatostroma salicis* Corda. На тополі: *Schizophyllum amplum* (Lév.) Nakasone. та *Botryosphaeria dothidea* (Moug. : Fr.) Ces. & De Not. На волоському горіху: *Juglanconis juglandina* (Kunze) Voglmayr et Jaklitsch, *Thyridaria broussonetiae* (Sacc.) Traverso (разом з *Diplodia* sp.) На маслині: *Aplosporella elaeagnina* (Fairm.) Petr. & Syd. (= “*Diplodia elaeagni* Pass.”). На дубі: *Valsaria* cf. *rudis* (P. Karst. & Har.) Theiss. & Syd. ex Petr. & Syd., *Diatrypella quercina* (Pers.) Cooke, *Taeniolella pulvillus* (Berk. & Broome) M.B. Ellis. На гнилій деревині: *Lycoperdon perlatum* Pers.

На трав’янистих рослинах нами було знайдено: *Colletotrichum dematium* (Pers.) Grove (на *Cichorium*), *Diaporthe pardalota* (Mont.) Nitschke ex Fuckel у стадії *Phomopsis euphorbiae* (Sacc.) Traverso, cf. *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. і *Uromyces pisi-sativi* (Pers.) Liro (на *Euphorbia*), *Leptosphaeria doliolum* (Pers.: Fr.) Ces. & de Not. у стадії *Phoma acuta* (Hoffm.: Fr.) Fuckel (на *Urtica*), *Phaeosphaeria culmorum* (Auersw.) Leuchtm. (на *Phragmites*), *Uromyces acetosae* J. Schröt. (на *Rumex*), *Seimatosporium lichenicola* (Corda) Shoemaker & E. Müll. і *Diaporthe insignis* Fuckel (на *Rubus*), *Camarosporidiella halimodendri* Wanas., Bulgakov & K.D. Hyde (на *Cytisus*) та *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & D.L. Olivier (на мертвому злаку).

#### Гарбуз Д.

#### НОВІ ЗНАХІДКИ ФІТОТРОФНИХ ГРИБІВ ІЗ НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ «ГЕТЬМАНСЬКИЙ»

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
garbuz.dmytro99@gmail.com

**Harbuz D.** NEW FOUNDS OF PHYTOTROPHIC FUNGI FROM THE HETMANSKYI NATIONAL NATURE PARK. Hetmanky National Nature Park was established in 2009 to protect the natural complexes of Vorskla River. There are few groups of fungi were investigated on this territory since 1960: agarics, coprophilous fungi, powdery mildews, rusts. New data about 18 species of phytotrophic fungi collected in September - October 2019 are presented.

Національний природний парк «Гетьманський», розташований у північній частині Харківського Лісостепу (Сумська обл., Україна), був створений у 2009 р. з метою збереження природних комплексів середньої течії р. Ворскла.

Територію, яку нині займає національний парк, мікологи вивчали з 60-х років ХХ ст.

У різні роки А.С. Бухало (1958), В.П. Гелюта (1985) і О.Г. Гаврило (1998) досліджували борошністоросяні гриби. З 1970-х, упродовж 40 років, базидієві макроміцети досліджувала К.К. Карпенко. У 2012 р. Ю.І. Голубцова (Литвиненко) разом зі студентом О.В. Холодковим вивчали фітотрофні та копрофільні гриби парку. Незважаючи на це, наявні дані лише частково репрезентують різноманіття грибів території, а багато систематичних і еколого-трофічних груп грибів залишаються недослідженими.

У вересні-жовтні 2019 р. студенти й викладачі кафедри мікології та фітоімунології біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна здійснили експедицію до НПП «Гетьманський». Частина дослідницької групи зосередилася на пошуках фітотрофних грибів в околицях с. Климентове Охтирського р-ну. Зразки, що досліджувались у цій роботі, становлять живі й мертві частини рослин з ознаками колонізації грибами. Визначення зразків проводили з використанням світлової мікроскопії з подальшим їх розміщенням у науковому мікологічному гербарії ХНУ – CWU (Мус).

Загалом у природних фітоценозах парку нами ідентифіковано 18 видів фітотрофних грибів. Із них більшість становлять представники відділу Ascomycota (16 видів), а решта - відділу Basidiomycota (2 види іржастих грибів).

Більшість видів є досить поширеними, та лише 7 знахідок згадувалися в попередніх дослідженнях парку. Це 3 види борошністоросяних грибів *Erysiphe adunca* (Wallr.) Fr., *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V.P.

Heluta та *Golovinomyces depressus* (Wallr.) V.P. Heluta, іржасті гриби *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) G. Winter та *Phragmidium mucronatum* (Pers.) Schltdl. та сумчасті гриби *Phyllactinia fraxini* (DC.) Fuss і *Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr.

Крім того, ми виявили 11 видів грибів, що не згадуються в публікаціях, присвячених ННП «Гетьманський». До них належать: *Arthrimum phaeospermum* (Corda) M.B. Ellis, *Asteromella platanoidis* (Sacc.) Petr., *Botryosphaeria visci* (Kalchbr.) Arx & E. Müll., *Ciboria batschiana* (Zopf) N.F. Buchw., *Coleroa robertiani* (Fr.) E. Müll., *Colletotrichum liliacearum* Ferraris, *Didymella pomorum* (Thüm.) Qian Chen & L. Cai, *Mycosphaerella podagrariae* (Roth) Petr., *Phyllosticta cruenta* (Fr.) J. Kickx f., *Phyllosticta urticina* Garb., *Septoria* cf. *rumicis*. Субстратами вищезгаданих грибів були листки або гілки *Acer tataricum* L., *Aegopodium podagraria* L., *Convallaria majalis* L., *Geranium robertianum* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Pyrus communis* L., *Rumex acetosa* L., *Urtica dioica* L. та *Viscum album* L.

Нові знахідки доповнюють наявні дані про різноманіття фітотрофних грибів ННП «Гетьманський» і регіону загалом, однак подальше вивчення цієї групи в Харківському Лісостепу не втрачає своєї актуальності.

### Гладкіх А., Волкова Р.

#### ІНТРОДУКОВАНІ MALVACEAE У БОТАНІЧНОМУ САДУ ХНПУ ІМ. Г. С. СКОВОРОДИ

Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди  
вул. Валентинівська, 2, м. Харків, 61168, Україна  
gladkih1204@gmail.com

**Gladkih A., Volkova R.** INTRODUCED SPECIES OF MALVACEAE IN THE H.S. SKOVORODA KhNPU BOTANICAL GARDEN. The paper presents the results of assessing the diversity and living conditions of introduced species Malvaceae of the H.S. Skovoroda KhNPU botanical garden, which are characterized by high environmental plasticity and decorativeness. It was revealed that 8 species belonging to 4 genera (*Abelmoschus*, *Althaea*, *Hibiscus* and *Tilia*) grow in the study area. The species *Hibiscus hybridus* is represented by 5 varieties, and *Tilia platyphyllos* - by 3 varieties. All species more or less well adapted to the conditions of the botanical garden, bloom and bear fruit, except for *Abelmoschus esculentus*.

Ботанічний сад ХНПУ імені Г. С. Сковороди засновано у 2006 р. на базі дендрарію та оранжереї, які, в свою чергу, було відкрито у 1988 р. з метою озеленення території біля нового корпусу навчального закладу. Площа його освоєних земель сягає 8 га. У ботанічному саду містяться живі колекції рослин відкритого та захищеного ґрунту, серед яких понад 2500 інтродукованих видів, колекція насінного матеріалу, що слугує фондом для відновлення рослин і основою для обміну насінним матеріалом між ботанічними садами України та світу.

Територія ботанічного саду розміщена на бідних піщаних ґрунтах, через що часто виникають проблеми, пов'язані з ростом і розвитком багатьох культурних видів рослин. Перед їхньою посадкою готують ями ємністю 1 м<sup>3</sup>, які наповнюють ґрунтом. Тому при виборі асортименту інтродуцентів перевага надається тим видам, які відрізняються високою екологічною пластичністю і толерантністю до едафічних умов. Таким вимогам відповідають представники родини Malvaceae Juss., до того ж вони мають важливе господарське значення. Здавна Malvaceae відомі як технічні, лікарські, їстівні, декоративні рослини (Рахметов, 1999). Тому метою роботи стало дослідження різноманіття і стану інтродукованих представників Malvaceae ботанічного саду ХНПУ імені Г.С. Сковороди.

Інвентаризація показала, що на обстеженій території росте 8 видів, які належать до 4 родів (*Abelmoschus*, *Althaea*, *Hibiscus* та *Tilia*). До того ж вид *Hibiscus hybridus* L. налічує 5 сортів, а *Tilia platyphyllos* – 3 сорти.

У ботанічному саду ХНПУ найрізноманітніше представлений рід *Hibiscus* (4 види), батьківщиною якого є Південно-Східна Азія:

*Hibiscus hybridus* F. Dietr. – отриманий від схрещування трьох північноамериканських видів – г. червоного (*H. coccineus*), г. болотного (*H. moscheutos*) і г. гостролистого (*H. militaris*) селекції Ф.Н. Русанова, завезено у 2010 р., добре росте і плодоносить, відзначається морозостійкістю;

*Hibiscus syriacus* L. (г. сирійський) – завезено 6 сіяньців у 2013 р. з приватної колекції, акліматизувався через 2 роки, добре росте і плодоносить, але порівняно з *Hibiscus hybridus* виявився менш морозостійким;

*Hibiscus trionum* L. (г. трійчастий) – насіння завезено та висаджено 2013 р., дуже швидко акліматизувався і за типом життєвої стратегії поводить себе як експлерент;

*Hibiscus rosa-sinensis* L. (г. китайський) – насіння завезено 2014 р., добре акліматизувався, рясно цвіте і плодоносить.

Серед трав'яних інтродуцентів цієї родини є:

*Althaea trimestris* (L.) Kuntze (синонім *Lavatera trimestris* L.), походить зі Середземномор'я, завезена 2014 р., добре пристосувалася до умов відкритої оранжереї та двічі за період вегетації дає плоди;

*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (бамія, або гібіск їстівний), батьківщиною якої є Африка. У відкритому ґрунті ботанічного саду ХНПУ ще жодного разу не цвіла.

Крім аборигенного виду *Tilia cordata* Mill., на території ботанічного саду росте ще 2 інтродукованих види липи: *Tilia × europaea* L. і *T. platyphyllos* Scop., останній представлений формами *laciniata* (розсіченолиста),

*vitifolia Simonkai* (виноградолиста) та звичайною. Всі особини мають гарний стан, пошкоджень і хвороб не виявлено.

**Головчак А.В., Савосько В.М.**

**ФЛОРИСТИЧНИЙ СКЛАД І ПОШИРЕННЯ ШПИЛЬКОВИХ ВИДІВ РОСЛИН У ЗЕЛЕНИХ НАСАДЖЕННЯХ МЕТАЛУРГІЙНОГО РАЙОНУ М. КРИВИЙ РІГ**

*Криворізький державний педагогічний університет  
вул. Гагаріна, 54, м. Кривий Ріг, 50086, Україна  
alenagolovchack@gmail.com*

**Golovchak A.V., Savosko V.M.** FLORISTIC COMPOSITION AND SPATIAL DISTRIBUTION OF PLANT CONIFER SPECIES IN GREEN SPACE AT METALLURGICAL DISTRICT, KRYVYI RIH CITY. It was found that the floristic composition of coniferous plant species in urban green is poor – 10 species from 6 genera and 3 families. In urbane green space the most commonly used species are *Picea pungens*, *Thuja occidentalis* and *Juniperus communis*.

Металургійний район міста Кривий Ріг безпосередньо межує з гірничо-металургійним ПАТ «АрселорМіттал» (колишній комбінат «Криворіжсталь»), що створює надпотужне техногенне навантаження й актуалізує заходи з озеленення житлових територій.

Особливе місце у міських зелених насадженнях належить шпильковим (хвойним) видам рослин. Вони є джерелом кисню та легких протимікробних речовин, що благотворно впливають на кліматичні, санітарно-гігієнічні й екологічні умови. Крім цього, різноманіття розмірів, форм і кольорів хвойних насаджень робить їх незамінними для міських фітоценозів.

Мета роботи - проаналізувати флористичний склад і поширення шпилькових (хвойних) видів рослин у зелених насадженнях Металургійного району м. Кривий Ріг (Дніпропетровська обл.).

Об'єкти дослідження - зелені насадження загального й обмеженого користування. Вивчення шпилькових (хвойних) рослин проводили маршрутним методом у 2018-2019 рр.

Аналіз отриманих результатів показав, що в зелених насадженнях загального та обмеженого користування Металургійного району м. Кривого Рога було виявлено 10 видів шпилькових (хвойних), які належать до 6 родів, що підпорядковуються 3 родинам. Серед визначених родин у складі флори переважають кипарисові (Cupressaceae Gray) – 5 видів. Відповідно до родової ознаки, провідне місце займають роди ялівець (*Juniperus* L.) і ялина (*Picea* L.), по 3 види кожного. Види представлені як деревними, так і чагарниковими формами. Відповідно, кількісно найбільш представлений вид *Picea glauca* (Moench) Voss., (понад 620 екземплярів) і *Thuja occidentalis* L. (понад 500 екземплярів). Серед чагарникових форм найбільшу площу займають представники виду *Juniperus communis* L.

Слід зазначити, що видова різноманітність шпилькових (хвойних) видів рослин на територіях досліджуваних ділянок свідчить про їхню нерівномірну поширеність. Так, 7 і 6 видів поширені на 2 ділянках відповідно, що лежать на територіях загального користування. На 5 ділянках поширені 4 види. На 8 ділянках хвойних не було зовсім. На решті ділянок спостерігалася найменша кількість видів (1-3). Максимальну кількість видів виявлено на території скверу 60-річчя Перемоги та парку Героїв (по 7 видів). По 6 видів визначено в парку ім. Б. Хмельницького та біля будівлі виконкому Криворізької міської ради.

Таким чином, флористичний склад шпилькових (хвойних) видів рослин у зелених насадженнях загального й обмеженого користування території Металургійного району є збідненим – 10 видів із 6 родів і 3 родин. Найпоширенішими є види *Picea pungens*, *Thuja occidentalis* та *Juniperus communis*.

Максимальне різноманіття кількісного і якісного складу спостерігається на територіях парків і скверів. На території навчальних закладів росте, переважно, 1-2 види, а на територіях закладів охорони здоров'я – 3-4.

**Довбня М.**

**КСИЛЯРІЄВІ ГРИБИ (XYLARIALES NANNF.)  
НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ «ЯВОРІВСЬКИЙ»**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
mr.maus2509@gmail.com*

**Dovbnya M.** XYLARIALES REPRESENTATIVES FROM THE YAVORIVSKYI NATIONAL NATURE PARK. Yavorivskiy NNP (Yavoriv district, Lviv region) was founded in 1998 to protect the natural complexes of the Ukrainian Roztochchia. New data about 17 species of fungi from National Park, collected in October 2019, are presented.

Карпати і Розточчя є осередками найбільшого різноманіття грибів в Україні. Національний природний парк «Яворівський» (Яворівський р-н Львівської області) було створено 1998 р. на базі Яворівського ландшафтного парку та прилеглих до нього територій з метою збереження природних комплексів Українського Розточчя.

Мікологічні дослідження в цій місцевості розпочато польськими вченими наприкінці XIX – на початку XX ст. Матеріали з Українського Розточчя лягли в основу спеціалізованих дисертаційних робіт: І.В. Базюк-Дубей (агарикоїдні гриби) та М.В. Пірогов (лишайники та ліхенофільні гриби). Інформація про знахідки певних

видів грибів Розточчя представлена в роботах О.Ю. Акулова, В.П. Гелюти, В.В. Кузуб (Джаган), Д.В. Леонтєва, Н.І. Павлюк та ін. Незважаючи на це, вивченість грибів польської частини Розточчя значно випереджає таку для української. Згідно з монографією «Roztocze – przyroda i człowiek» (2015), мікобіота Розточчя налічує 1618 видів. При цьому для польської частини регіону відомо 1357 видів, а для української – 695.

Нижче представлено результати визначення зразків ксиларієвих грибів (Xylariales Nannf., Ascomycota Caval.-Sm.), зібраних у жовтні 2019 р. О.Ю. Акуловим, доцентом кафедри мікології та фітоімунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Переважна більшість відомих видів ксиларієвих грибів плодоносить на мертвій деревині, але сучасні дослідження показали, що часто вони колонізують ще живі рослини і протягом тривалого часу розвиваються в них безсимптомно, як ендотрофи.

Опрацювавши гербарні матеріали, ми ідентифікували 17 видів ксиларієвих грибів, що є представниками п'яти родин.

Родина Hypoxylaceae DC представлена видами: *Hypoxylon fuscum* (Pers.) Fr. (на *Alnus glutinosa* та *Corylus avellana*), *Hypoxylon fragiforme* (Pers.) J. Kickx f. (на *Betula pendula* та *Fagus sylvatica*), *Hypoxylon howeanum* Peck (на *Fagus sylvatica*), *Jackrogersella cohaerens* (Pers.) L. Wendt, Kuhnert & M. Stadler (на *Fagus sylvatica*), *Jackrogersella multiformis* (Fr.) L. Wendt, Kuhnert & M. Stadler (на *Betula pendula* та *Cerasus sp.*).

Родина Diatrypaceae Nitschke включає види: *Diatrype stigma* (Hoffm.) Fr. (на *Betula pendula*), *Diatrype bullata* (Hoffm.) Fr. (на *Salix caprea*), *Diatrype decorticata* (Pers.) Rappaz (на *Fagus sylvatica*), *Diatrypella favacea* (Fr.) Ces. & DeNot. (на *Betula pendula*), *Eutyra spinosa* (Pers.) Tul. & C. Tul. (на *Fagus sylvatica*), *Eutyra flavovirens* (Pers.) Tul. & C. Tul. (на *Betula pendula*) та *Eutyra leioplaca* (Fr.) Cooke (на *Acer sp.*).

Родина Xylariaceae Tul. & C. Tul. включає види: *Xylaria longipes* Nitschke (на *Fagus sylvatica*), *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev. (на *Quercus robur*), *Rosellinia corticium* (Schwein.) Sacc. (на *Quercus robur*).

Родина Graphostromataceae M.E. Barr, J.D. Rogers & Y.M. Ju представлена одним видом *Biscogniauxia nummularia* (Bull.) Kuntze (на *Fagus sylvatica*).

Родина Lopadostomataceae Daranag. & K.D. Hyde представлена видом *Lopadostoma turgidum* (Pers.) Traverso (на *Fagus sylvatica*).

**Іванов Р.М., Полєжаєв І.І.**

**НОВІ ЗНАХІДКИ КОПРОТРОФНИХ ГРИБІВ  
З НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ «ПРИП'ЯТЬ-СТОХІД»**

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
iroma423@gmail.com

**Ivanov R.M., Poliezhayev I.I.** NEW FINDS OF COPROTROPHIC FUNGI FROM THE NATIONAL NATURE PARK «PRYPYAT-STOKHID». Information about 7 species of coprotrophic fungi, grown on the dung samples in the moist chamber, is presented. All species are Ascomycota representatives and registered in the Nature Park for the first time.

Національний природний парк «Прип'ять-Стохід» розташований на північному сході Волинської області, біля кордону з Білоруссю. Він створений у 2007 р. для охорони природних комплексів долин річок Прип'ять і Стохід. У структурі земель парку представлені болота – 43 %, ліси – 35 %, чагарники – 16 %, ріки і озера – 6 %. Це дає підстави сподіватися на цій території багатой і своєрідної мікобіоти.

Станом на цей час відомості про гриби парку «Прип'ять-Стохід» відображені у єдиній публікації київської дослідниці М.О. Зикової (2017). У її статті наведено інформацію про 126 видів дискоміцетів із різних екологічних груп, зокрема, 7 видів копротрофів.

Наша робота ґрунтується на дослідженні зразків екскрементів коня та козулі, що були зібрані 29 липня 2019 р. в околицях с. Люб'язь (Любешівський р-н Волинської обл.) О.Ю. Акуловим – доцентом Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Спорношення копротрофних грибів було отримано в лабораторних умовах методом вологої камери. Визначення зразків здійснювали методом світлової мікроскопії. Усі зразки були етикетовані і зберігаються в мікологічному гербарії CWU (Мус).

У результаті виконаної роботи нами було ідентифіковано 7 видів копротрофних грибів. Усі вони є представниками відділу Ascomycota. Анаморфами (нестатевими спорношеннями) представлені види *Cephalotrichum stemonitis* (Pers.) Nees (= *Doratomyces stemonitis*) та *Cephalotrichum microsporum* (Sacc.) P.M. Kirk (= *Doratomyces microsporus*) з родини Microascaceae порядку Microascales, а також *Arthrobotrys superbus* Corda [часто як '*superba*'] з родини Orbiliaceae порядку Orbiliales. Телеоморфами (статевими спорношеннями) представлені види *Sporormiella australis* (Speg.) S.I. Ahmed & Cain та *Sporormiella intermedia* (Auersw.) S.I. Ahmed & Cain ex Kobayasi з родини Sporormiaceae порядку Pleosporales, а також два представники порядку Sordariales: *Collariella bostrychodes* (Zopf) X.Wei Wang & Samson (= *Chaetomium bostrychodes*) з родини Chaetomiaceae та *Podospora communis* (Speg.) Niessl з родини Podosporaceae.

Усі перелічені вище види вже були зареєстровані в Україні, але на території Національного природного парку «Прип'ять-Стохід» виявлені вперше.

**Карabanова О.О., Савосько В.М.**

ТАКСОНОМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ПОШИРЕННЯ  
ДЕРЕВНИХ І ЧАГАРНИКОВИХ ВИДІВ РОСЛИН В ПАРКУ «ДРЕВЛЯНСЬКИЙ»  
М. КОРОСТЕНЯ (ЖИТОМИРСЬКА ОБЛАСТЬ)

Криворізький державний педагогічний університет  
просп. Гагаріна, 54, м. Кривий Ріг, 50086, Україна  
zolto2009@meta.ua

**Karabanova O.O., Savosko V.M. TAXONOMIC CHARACTERISTICS AND SPREADING OF TREES AND SHRUBS IN THE AREA OF «DREVLANSKIY» PARK IN KOROSTEN (ZHYTOMYR REGION).** Green spaces in the city have great importance for urban planning. They play a significant role in forming of environment for people because they are able to improve the hygiene situation. «Drevlianskiy» park was investigated in taxonomic terms and it was discovered that the spreading of species which occurs there. There are 37 species of trees and shrubs belonging to 31 genera and 16 families which were discovered in «Drevlianskiy» park. The leading place in park is occupied by the following families: Tiliaceae, Betulaceae, Salicaceae, Rosaceae, Malvaceae, Oleaceae, Juglandaceae, Fagaceae, Pinaceae.

Велике і різноманітне значення мають зелені насадження у містобудуванні. Вони відіграють значну роль у формуванні сприятливого навколишнього середовища людини, тому що мають властивості поліпшувати санітарно-гігієнічну ситуацію (Заячук, 2008; Савосько, 2018-2019). Посадки знижують силу вітру, регулюють тепловий режим, звожують і очищають повітря (Кучевявий, 2008; Савосько, 2019). Знаючи пилозахисні властивості рослин, можна відповідним їх розміщенням і підбором порід домогтися найбільшого пилозахисного ефекту (Калініченко, 2003; Рубцов, 1977; Савосько, 2019).

Тому з'ясування систематичної характеристики деревних і чагарникових видів зелених насаджень м. Коростеня (на прикладі парку «Древлянський») є актуальним.

Матеріалами роботи слугували результати власних польових досліджень упродовж 2018–2019 рр. на території парку «Древлянський». У польових умовах маршрутним і рекогносцирувальним методами визначали видовий склад деревних і чагарникових рослин, який уточнювали за визначником (Определитель высших растений Украины, 1987). Користувалися номенклатурою родів і родин за С. К. Черепановим (1995).

Результати обстеження зелених насаджень м. Коростеня дали понад 37 видів рослин, що належать до 31 роду та 16 родин: із них до відділу покритонасінних (Magnoliophyta) – 31 вид і до відділу голонасінних (Pinophyta) – 6 видів.

Аналіз видового складу засвідчив незначний асортимент деревних рослин, але досить різноманітний за видовим складом. Провідне місце в паркових культурах м. Коростень займають родини: липові (Tiliaceae Juss.), березові (Betulaceae Gray), вербові (Salicaceae Mirbel) розові (Rosaceae Juss.), мальвові (Malvaceae Juss.), маслинові (Oleaceae Hoffm. & Link), горіхові (Juglandaceae Perleb), букові (Fagaceae Dumort.), соснові (Pinaceae F. Rudolphi).

Найчастіше у парку трапляються насадження: липи серцелистої (*Tilia cordata* Mill), липи широколистої (*Tilia platyphyllos* Scop.), берези повислої (*Betula pendula* Roth.), ясеня вузьколистого (*Fraxinus angustifolia* Vahl), клена звичайного (*Acer platanoides* L.), робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia* L.), горобини звичайної (*Sorbus aucuparia* L.), верби білої (*Salix alba* L.), верби плакучої (*Salix babylonica* L.), вільхи чорної (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.), черемхи звичайної (*Prunus padus* L.), шипшини собачої (*Rosa canina* L.), спіреї верболистої (*Spiraea salicifolia* L.), калини звичайної (*Viburnum opulus* L.), жасмину (*Jasminum* sp.).

Рідко трапляються: клен ясенелистий (*Acer negundo* L.), тополлю пірамідальну (*Populus pyramidalis* Roz.), горіх волосський (*Juglans regia* L.), шипшина чагарникова (*Rosa dumalis* Bechst.), барбарис звичайний (*Berberis vulgaris* L.), терен (*Prunus spinosa* L.), форзицію (*Forsythia x intermedia*), троянда біла (*Rosa alba* L.), ожина сиза (*Rubus caesius* L.), мальва (*Malva moschata* L.). Найрідше: катальпа бігніоподібна (*Catalpa bignonioides* Walter), дуб скельний (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), ліщина звичайна (*Corylus avellana* L.).

Таким чином, у парку «Древлянський» м. Коростеня (Житомирська обл.) у подальших дослідженнях доцільно продовжити вивчення насаджень парку з використанням системного підходу. Складання кадастру й оцінка стану зелених насаджень дасть змогу скласти плани реконструкції парку з використанням рослин, стійких до екологічних і природних умов міста.

**Кузьмина А.І.<sup>1</sup>, Дика О.О.<sup>1</sup>, Ференц Н.М.<sup>2</sup>, Хомин І.Г.<sup>2</sup>**

ВІКОВА СТРУКТУРА ЦЕНОПОПУЛЯЦІЇ *DACTYLORHIZA MACULATA* (L.) SOÓ  
НА ТЕРИТОРІЇ ПЗ «РОЗТОЧЧЯ»

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

<sup>2</sup>Природний заповідник “Розточчя”

вул. Січових Стрільців, 7, смт Івано-Франкове, 81070, Україна  
anastasiaku399@gmail.com, dykaolga7@gmail.com, zaproz25@gmail.com

**Kuzmina A., Dyka O., Ferents N., Khomyn I. AGE STRUCTURE OF *DACTYLORHIZA MACULATA* (L.) SOÓ COENOPOPULATIONS IN ROZTOCHYA NATURE RESERVE.** The common number, density of individu-



als and age structure of coenopopulation of *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae) are defined in Roztochya Nature Reserve. In the investigated coenopopulation individuals of all age states are present, they are characterized by low strength and density. The age spectrum of species is normal type – maximum is observed in generative individuals.

*Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (родина Orchidaceae) занесена до Червоної книги України (2009), природоохоронний статус виду – вразливий. На сьогодні у світі є проблема збереження видового різноманіття рослинного покриву. Під впливом антропогенних змін багато видів, зокрема, і представники родини Orchidaceae, випадають зі складу флори. Для правильного оцінювання стану та формування дієвих заходів охорони кожного виду потрібні дані про поширення, особливості біології, структури й динаміки популяцій у конкретному регіоні (Сорока, 2006).

Дослідження ценопопуляції *D. maculata* проводили на території Природного заповідника “Розточчя” та на прилеглий території у 2019 р. (ділянка № 1, північні околиці смт Івано-Франкове, Яворівський р-н, Львівська обл.). Відповідно до загальноприйнятих методик (Работнов, 1950; Уранов, 1975, 1977), враховуючи особливості онтогенезу орхідних, ми вирізняли 4 вікові групи: ювенільні (j), іматурні (im), дорослі вегетативні (vv) та генеративні (g). Дорослий вегетативний стан охоплює особини віргінільні та генеративні, які не мають генеративного пагона. Проростки, що ведуть підземний спосіб життя, не брали до уваги. Виявлення сенільних особин було утруднене у зв’язку з тим, що частина особин відмирає відразу після генеративної стадії, тому їх теж до уваги не брали (Любинець, 2005).

Для вивчення вікової структури ценопопуляції досліджуваного виду використовували метод трансект (Уранов, 1973). Трансекту площею 10 м<sup>2</sup> було поділено на 10 ділянок по 1 м<sup>2</sup>, на яких визначали вікові стани особин виду, знаходили чисельність усіх наявних вікових груп і процентне співвідношення вікових категорій.

Стан ценопопуляції оцінювали за сукупністю популяційних ознак рослин – чисельністю, щільністю та віковою структурою (Заугольнова та ін., 1993). Аналіз вікової структури ценопопуляції *D. maculata* показав, що у досліджуваному локалітеті наявні особини 4-х вікових груп. Віковий спектр *D. maculata* у 2019 р. повночленний (j - 7,2 %, im - 15,5 %, vv - 23,2 %, g - 54,1 %), одновершинний, у ньому переважають генеративні особини. На досліджуваній ділянці щільність особин *D. maculata* становить 38 ос/10 м<sup>2</sup>, а проективне вкриття *D. maculata* становить 30 %.

Ценопопуляція характеризується низькою чисельністю і щільністю, але є стабільною та перебуває у задовільному стані.

Потрібні подальші спостереження для виявлення багаторічної динаміки чисельності і впровадження заходів щодо її збереження й охорони.

**Лемик А., Гончаренко В.**

#### ВИДИ СІНАНТРОПНОЇ ФЛОРИ РОДОВИЩ БУРОГО ВУГІЛЛЯ У ЗОЛОЧІВСЬКОМУ РАЙОНІ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
vherbarium@ukr.net

**Lemyk A., Honcharenko V.** TYPES OF SYNANTHROPIC FLORA OF BROWN COAL DEPOSIT IN ZOLOCHIV DISTRICT, LVIV AREA. The synanthropic flora of brown coal deposits in Zolochiv district, Lviv area was investigated. There were revealed 50 species of synanthropic plants on the territory of brown coal deposit in Kozaky village, and 40 species on the territory of deposit in Novoselyschche village. Correlation of sum of apophytes and anthropophytes for the flora of brown coal deposit of Kozaky village is 3 : 1., and for the deposit of Novoselyschche village – 2,6 : 1.

З кожним роком процес адвентизації флори України зростає, що виявляється у збільшенні видового складу видів адвентивних рослин. Безсистемний техногенний вплив людини на стан довкілля призвів до його значного руйнування. На сьогодні збереглося близько 30 % площ ландшафтів, які мають природну рослинність на різних стадіях її трансформації. Для оцінки масштабу процесу адвентизації у сучасних умовах необхідно провести інвентаризацію флори як на певних територіях, так і загалом.

Вивчення синантропної флори проводили з осені 2016 р. по осінь 2019 р. Основу роботи становлять результати аналізу власних польових досліджень, проведених на території родовищ бурого вугілля (с. Козаки Золочівського району Львівської області та с. Новоселище Золочівського району Львівської області). Визначення видів проводили традиційним порівняльно-морфологічним методом. Види визначали за «Определителем высших растений Украины» (1987). Проведено систематичний аналіз апофітної й адвентивної фракції флори території дослідження.

На території родовища бурого вугілля с. Козаки виявлено 50 видів синантропних рослин. Вони належать до 2 відділів, 3 класів і 24 родин, що свідчить про високу таксономічну різноманітність.

Найбільшим класом рослин є клас Magnoliopsida, представлений 14 родинами, та клас Liliopsida, представлений 7 родинами. Найбільшими родинами за кількістю видів є родина Rosaceae, представлена 8 видами, родина Asteraceae – 7 видами, родина Fabaceae – 4 видами, родини Pinaceae, Fagaceae і Poaceae – 9

видами. Серед синантропних видів флори родовища апофітів налічується 37 видів (74 %). Співвідношення суми апофітів і антропофітів - це важлива ознака під час аналізу ступеня синантропізації флори. Для досліджуваної території це співвідношення становить 3 : 1.

Таким чином, синантропна флора сформувалася під впливом аборигенної флори, і нині процеси апофітизації переважають над процесами адвентизації.

На території родовища бурого вугілля с. Новоселище виявлено 40 видів синантропних рослин. Вони належать до 3 відділів, 4 класів, 17 родин, що свідчить про високу таксономічну різноманітність.

Найбільшим класом рослин є клас Magnoliopsida, представлений 14 родинами, і клас Liliopsida, представлений 2 родинами. Найбільшими родинами за кількістю видів є родина Asteraceae – 10 видів, родина Rosaceae – 6 видів, родина Fabaceae – 4 види, родини Pinaceae, Poaceae, Lamiaceae, Ranunculaceae – по 8 видів. Серед синантропних видів флори родовища апофітів налічується 29 видів (72,5 %).

Для досліджуваної території співвідношення суми апофітів і антропофітів становить 2,6 : 1, а це засвідчує, що синантропна флора території дослідження сформувалася під впливом аборигенної флори і що нині процеси апофітизації переважають над процесами адвентизації.

#### **Лучка Д., Прокопів А.**

##### ІСТОРИЧНІ КОЛЕКЦІЇ *IRIS HYBRIDA* L. КОЛЕКЦІЇ БОТАНІЧНОГО САДУ ЛНУ ІМ. ІВАНА ФРАНКА

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

darynalviv@ukr.net

**Luchka D., Prokopiv A.** HISTORICAL COLLECTIONS OF *IRIS HYBRIDA* L. COLLECTIONS IN THE BOTANICAL GARDEN OF IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV. The historical collections of *Iris* of the Botanical Garden of the Ivan Franko National University of Lviv are interesting for various reasons. One of them is, in particular, their preservation as a historical inheritance. Another important reason is the ability to use these varieties in subsequent breeding. Their useful qualities allow us to bring new varieties with interesting combinations of features and better adaptive capabilities.

Проаналізувавши структуру колекційних фондів роду *Iris* L. Ботанічного саду ЛНУ ім. Ів. Франка, зосередили увагу на сортах історичної колекції, які відзначаються стійкістю до хвороб і шкідників. Основу колекції становлять сорти *Iris hybrida* hort, які налічують 78 сортів, із яких 73 культивари належать до високих борідкових (ТВ), наприклад, сорти 'Mary Frances', 'Blue Shimmer', 'California Gold', 4 – до середньорослих борідкових ірисів (ІВ) – 'Mrs. Horace Darwin', 'Gypsy Queen', 'Sapphire', 'Rota', а також сорт 'Elmohr' із групи гібридів арилбредів (АВ).

Колекцію історичних культиварів *Iris hybrida* hort представляють сорти американської, німецької, англійської, французької селекції. У колекції переважають сорти з 40-х років минулого сторіччя. Тут представлені сорти 'Amethyst Flame', 'Arcady', 'Babbling Brook', 'Blue Rhythm', 'Mary Frances', 'Maisie Lowe', 'Shipshare', 'Sable Night', 'Stepping Out', 'Violet Harmony', 'Vanity', 'Wabash', 'White City', 'Dauntless', 'Elmohr'. Вони відзначені медалями Дайкса (найвища нагорода, яку присвоюють судді Американської спілки ірисів), а також номіновані на інші нагороди - Нагороду за заслуги (АМ), Почесну згадку (НМ), Вищу похвалу (НС), Кубок Франкліна Кука, Нагороду Артура Нельсона, Президентський кубок.

За феноритмотипами серед історичних сортів виявили широкий спектр термінів цвітіння - від раннього до пізнього.

Найбільше сортів - зі середнім терміном цвітіння (зазвичай травень–червень). Здійснили оцінку сортів за наявністю чи відсутністю повторного цвітіння даних сортів.

#### **Мешков Я., Гавриш П.**

##### ПЕРША ЗНАХІДКА РІДКІСНОГО ГРИБА

##### *THYRIDARIA BROUSSONETIAE* (SACC.) TRAVERSO НА ПІВДНІ УКРАЇНИ

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна

yamshkv@gmail.com

**Mieshkov Ya., Havrysh P.** THE FIRST FIND OF RARE FUNGUS *THYRIDARIA BROUSSONETIAE* (SACC.) TRAVERSO FROM SOUTHERN UKRAINE. The information about finds of *Thyridaria broussonetiae* and its relative *Cyclothyriella rubronotata* on *Juglans regia* twigs in Ukraine are given. The possibility of *T. broussonetiae* parasitism on *Diplodia spp.* is discussed.

Асковий гриб *Thyridaria broussonetiae* (Sacc.) Traverso є типовим видом роду *Thyridaria* з родини Thyridariaceae Q. Tian & K.D. Hyde порядку Pleosporales Luttr. ex M.E. Barr. Він описаний П.А. Саккардо у 1873 р. під назвою *Cucurbitaria broussonetiae* Sacc. Тип виду був зібраний на адвентивній рослині *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. в Італії. Вже двома роками пізніше П.А. Саккардо показав, що цей вид не є хазяїн-специфічним, переназвав його *Thyridaria incrustans* і призначив типом новоствореного роду *Thyridaria* Sacc.

Але оскільки назва *C. broussonetiae* є пріоритетною, тепер для найменування виду використовують комбінацію *Thyridaria broussonetiae*.

Гриб характеризується утворенням вальсоїдних стром, які містять невеличкі групи псевдоперитеціїв. Навколо остіолярної шийки молодих плодкових тіл часто наявна жовтувато-червона інкрустація, яка з часом зникає. Аски восьмиспорові, 109–183 × 12–19 мкм, бітунікатні, циліндричні, з короткою ніжкою. Аскоспори розташовані в один ряд, 18–33 × 6–11 мкм, видовжені або веретенподібні, спочатку світліші, згодом темно-коричневі, з трьома поперечними септами. Статеве спороношення інколи супроводжується анаморфою типу *Coniothyrium* Corda з несептованими конідіями 4,5–6,5 × 3–4 мкм димчастого кольору.

*Thyridaria broussonetiae* – доволі рідкісний вид, що інколи трапляється на гілках листяних порід дерев і чагарників у країнах Південної Європи. Наша знахідка (CWU (Muc) AS 7525) зібрана О.Ю. Акуловим на гілках *Juglans regia* L. на території Чорноморського біосферного заповідника (Солоноозерна ділянка, Голопристанський р-н, Херсонська обл.) 1 травня 2013 р. Спороношення *T. broussonetiae* розвивалися разом із пікнідами іншого аскового гриба – *Diplodia juglandis* (Fr.) Fr. (Botryosphaeriaceae Theiss. & Syd., Botryosphaerales C.L. Schoch, Crous & Shoemaker).

Слід зауважити, що *T. broussonetiae* неодноразово знаходили в асоціації з пікнідами *Diplodia* spp. П.А. Саккардо вважав, що *Diplodia* є синанаморфою *Coniothyrium* і називав її *Diplodia incrustans* Sacc. Сучасні дослідження показують, що гриби роду *Coniothyrium* часто є мікофілами, тож можна припустити, що *T. broussonetiae* паразитує на *Diplodia* spp. Його «невибагливість» до систематичного положення рослини-хазяїна може пояснюватися тим, що насправді його субстратом слугують різні види диплодій.

Згідно з «Визначником грибів України», на гілках *Juglans regia* в Донецькій області раніше вже було знайдено «*Kalmusia incrustans*». Цей запис ґрунтується на матеріалах статті Г.С. Харкевич (1959), у якій вид наводиться як *Thyridaria (Kalmusia) incrustans* var. *minor* (Sacc.) Sacc. Цей вид є близьким до *T. broussonetiae*, але характеризується значно меншими аскоспорами і тепер відомий як *Cyclothyriella rubronotata* (Berk. & Broome) Jaklitsch & Voglmayr.

**Недял Л., Вашека О., Шевчик В.**

**ЩИТНИК РОЗШИРЕНИЙ (*DRYOPTERIS DILATATA* (HOFM.) A. GRAY) – НОВИЙ ВИД ФЛОРИ  
КАНІВСЬКОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВІДНИКА**

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
просп. Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03127, Україна  
ira.nedyal12@gmail.com

**Nedyal L., Vasheka O., Shevchyk V.** BROAD BUCKLER FERN (*DRYOPTERIS DILATATA* (HOFM.) A. GRAY) – NEW SPECIES FOR FLORA OF KANIV NATURE RESERVE. A new fern species for the Kaniv Nature Reserve (Ukraine) was found in 2019. Some specimens of *Dryopteris dilatata* (Hofm.) A. Gray were growing on shaded and humid slope in a hornbeam forest. The location is dated to the upland part of the reserve on the right bank of the Dnepr River. This species could be confused for a long time, given its resemblance to the more typical for this region *Dryopteris carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs. The new location also might be due to the spores disperse form solitary *D. dilatata* sites situated in the forest steppe region of Ukraine.

Канівський природний заповідник розташований неподалік м. Канева, на правому березі та заплавах островів р. Дніпра на межі Дністровсько-Дніпровського та Лівобережно-Дніпровського лісостепових країв Лісостепової зони України (ГЕУ, 1990).

Його флора налічує близько 990 видів судинних рослин, зокрема, 29 видів, занесених до Червоної книги України, та 6 видів із Європейського червоного списку (Шевчик та ін., 1996, Нечитайло та ін., 2002). За цими ж даними судинні спорові рослини представлені 27 видами, із яких 3 види роду щитник (*Dryopteris* Adans.) із родини Dryopteridaceae.

Незважаючи на те, що судинні рослини заповідника неодноразово вивчалися, у т. ч. співробітниками Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Нечитайло та ін., 2002), список флори підлягає постійним змінам і доповненням. Так, під час навчальної практики в червні 2019 р. нами виявлено щитник розширений (*Dryopteris dilatata* (Hofm.) A. Gray), що є новим видом папороті для флори заповідника. Кілька екземплярів росли на затіненій ділянці, що розміщувалася на схилі у грабовому лісі в надзаплавній («нагірній») частині заповідника на правому березі Дніпра.

*D. dilatata* (syn. *Dryopteris austriaca* (Jacq.) Woyw.) – кореневищний розетковий вид до 100 см заввишки. Листки яйцеподібні або яйцеподібноланцетні, триперисторозсічені, з крилатою віссю. Базальні сегменти першого порядку трикутні, злегка нерівнобічні, за довжиною майже не відрізняються від наступних, або трохи коротші. Соруси округлі, розміщені на кінцях жилок, індузії майже білі, переважно залозисті, прикріплені радіальною борозенкою, під час досягання спор – зморщуються та лійкоподібно згортаються (Вашека, Безсмертна, 2012).

Основні діагностичні ознаки виду: наявність при основі черешка видовжено-трикутних, двоколірних (світло-коричневих з темно-коричневою смужкою посередині) лусок, переважно залозистих індузій, а також форма базальних сегментів першого порядку.

Даний вид поширений у Європі - на схилах у переважно широколистяних гірських лісах (Fischer & Lobin, 2006). В Україні трапляється на території Карпат, Полісся та Лісостепу у хвойних і мішаних лісах на гумусових та кислих ґрунтах (Определитель, 1987, Екофлора України, 2000, Вашека, Безмертна, 2012).

На нашу думку, цей вид довго міг лишатися непоміченим, зважаючи на його подібність до більш типового для даної місцевості щитника шартрського (*Dryopteris carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs), або ж новий локалітет міг виникнути шляхом занесення спор, зважаючи на поодинокі знахідки даного виду в Лісостеповій зоні України (Екофлора України, 2000).

**Нехлюда Л., Поздній Є., Савосько В.**

ОСОБЛИВОСТІ ДЕНДРОФЛОРИ ПАРКУ СМТ НОВОВОРОНЦОВКА (ХЕРСОНСЬКА ОБЛ.)

Криворізький державний педагогічний університет  
просп. Гагаріна, 54, м. Кривий Ріг, 50086, Україна  
lyvroshenko88@gmail.com

**Nekhlyuda L., Pozdny E., Savosko V.** FEATURES OF THE PARK DENDROFLORA OF NOVOVORON-TSOVKA (KHERSON REGION). Nowadays, green spaces play a significant role in optimizing the environment of human existence. This issue remains relevant for most of the settlements located in the arid steppe zone, including the Kherson region. Today, the park has changed, but the main species composition of trees and the principle of planting remains unchanged. In field conditions, the route method was used to determine the composition of the park's dendroflora, which was specified by the determinant.

Нині деревні зелені насадження відіграють значну роль в оптимізації навколишнього середовища існування людини (Кучерявий, 2008). Це питання актуальне для більшості населених місць, розташованих у посушливій степовій зоні, зокрема, для Херсонської області. Якщо вивченню дендрофлори великих міст присвячено багато робіт, то видовий склад і стан деревних насаджень селищ у більшості випадків не досліджувалися взагалі або вивчалися несистемно, що і визначає актуальність проведеної роботи (Верменич, 2013).

Матеріалами слугували результати власних польових досліджень, які виконувались у 2018 – 2019 рр. на території парку смт Нововоронцовка. На сьогодні парк оновлено, але основний видовий склад дерев і принцип насаджень залишився без змін. Практично немає старих дерев, але останніми роками великими темпами насаджуються молоді. Унікальністю парку є те, що тут збережено первісний природний ландшафт, а різна експозиція, різні рівні зволоженості ґрунтів дають змогу поєднувати види рослин різних екологічних груп. У польових умовах маршрутним методом визначали склад дендрофлори парку, який уточнювали за визначником (Доброчаева, 1987). Аналіз отриманих результатів показав, що станом на 2019 р. дендрофлора парку смт Нововоронцовка налічує 26 видів, які належать до 15 родів, 10 родин і 2 відділів (Бойко, 1998). Відділ голонасінні представлений двома родинами: соснові (Pinaceae F. Rudolphi) та кипарисові (Cupressaceae Bartling). Родина Pinaceae на території парку представлена 3 монотипними родами і видами: сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.), ялина звичайна (*Picea abies* (L.) H. Karst.), модрина європейська (*Larix decidua* Mill.). Родина Cupressaceae налічує 2 монотипних роди і види: туя західна (*Thuja occidentalis* L.) і ялівець звичайний (*Juniperus communis* L.). За результатами наших досліджень, у парку смт Нововоронцовки покритонасінні представлені 8 родинами: розові (Rosaceae Juss.) – 2 роди, 8 видів: черемха звичайна (*Prunus padus* L.), горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) та чагарники: шипшина собача (*Rosa canina* L.), шипшина чагарникова (*Rosa dumalis* Benth.), троянда біла (*Rosa alba* L.), терен (*Prunus spinosa* L.), спірея верболиста (*Spiraea salicifolia* L.), ожина звичайна (*Rubus fruticosus* L. ex Dierb.); мальвові (Malvaceae Juss.) – 2 роди, 3 види: липа широколиста (*Tilia platyphyllos* Scop.), липа серделиста (*Tilia cordata* Mill.), мальва (*Malva moschata* L.); вербові (Salicaceae Mirbel) – 2 роди, 3 види: верба біла (*Salix alba* L.), верба плакуча (*Salix babylonica* L.), тополя пірамідальна (*Populus pyramidalis* Rozier); березові (Betulaceae Gray) – 3 роди та 3 види: береза повисла (*Betula pendula* Roth), вільха чорна (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.), ліщина звичайна (*Corylus avellana* L.); маслинові (Oleaceae Hoffm. & Link) – 3 роди, 3 види: ясен вузьколистий (*Fraxinus angustifolia* Vahl), бузок звичайний (*Syringa vulgaris* L.), форзиція (*Forsythia x intermedia*); сапіндові (Sapindaceae Juss.) – 1 рід, 3 види: клен явір (*Acer pseudoplatanus* L.), клен ясенелистий (*Acer negundo* L.), клен гостролистий (*Acer platanoides* L.); адоксові (Adoxaceae E. Meyen) – 1 рід, 1 вид: калина звичайна (*Viburnum opulus* L.); барбарисові (Berberidaceae Juss.) – 1 рід, 1 вид: барбарис звичайний (*Berberis vulgaris* L.).

У подальших дослідженнях буде доцільно виявити екземпляри багатвікових дерев, визначити їхній сучасний стан.

**Павлишин І., Жук О., Гончаренко В.**

СТАН ПОШИРЕННЯ ОМЕЛИ БІЛОЇ (*VISCUM ALBUM* L.)  
У СТРИЙСЬКОМУ ПАРКУ ТА ПАРКУ ІМ. ІВАНА ФРАНКА (М. ЛЬВІВ)

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
vherbarium@ukr.net

**Pavlyshyn I., Zhuk O., Honcharenko V.** THE STATE OF DISTRIBUTION OF WHITE MISTLETOE (*VISCUM ALBUM* L.) IN STRYISKIY PARK AND IVAN FRANKO PARK (LVIV). The distribution of *Viscum album* L.

in Stryi Park and Ivan Franko Park (Lviv) on trees of 5 species (*Acer platanoides* L., *Tilia cordata* Mill., *Betula pendula* Roth., *Robinia pseudoacacia* L., *Populus nigra* L.) was investigated. It was revealed that *Viscum album* has affected *Acer platanoides* species the most and no *Viscum album* was found on *Betula pendula* trees in Ivan Franko Park. *Viscum album* has been found on three trees in Stryiskyi Park.

Паразитизм серед вищих рослин поширений значно рідше, ніж серед грибів і бактерій, позаяк вищі квіткові рослини мають здатність до автотрофного живлення. Однак серед них є паразити, позбавлені хлорофілу повністю або частково, оскільки вони набули здатності поселятися на зелених рослинах.

Однією з таких рослин-паразитів є омела біла (*Viscum album* L.), яка останнім часом інтенсивно поширюється в зелених насадженнях м. Львова. Омела біла росте і розвивається на гілках 37 видів листяних деревних рослин, а іноді й на стовбурах тих видів, у яких дуже тонкий корок (Таран та ін., 2008).

На території двох парків досліджено дерева таких видів: клен звичайний (*Acer platanoides* L.), липа серцелиста (*Tilia cordata* Mill.), береза повисла (*Betula pendula* Roth.), робінія звичайна (*Robinia pseudoacacia* L.) і тополя чорна (*Populus nigra* L.). Дослідження проведено під час вегетаційного періоду 2019 р.

У парку ім. Ів. Франка виявлено рослини-хазяї досліджених видів: *Acer platanoides* – 127; *Tilia cordata* – 25; *Betula pendula* – 5; *Robinia pseudoacacia* – 39; *Populus nigra* – 14. Серед них уражено омелою білою у *Acer platanoides* – 32 дерева, *Tilia cordata* – 8, *Betula pendula* – 0, *Robinia pseudoacacia* – 26, *Populus nigra* – 5. Найбільше омелою білою уражено особин клена звичайного (32), зовсім не виявлено *Viscum album* на деревах берези повислої.

У Стрийському парку вдалося дослідити таку кількість дерев досліджуваних видів: *Acer platanoides* – 207, *Tilia cordata* – 64, *Betula pendula* – 49, *Robinia pseudoacacia* – 57, *Populus nigra* – 70. Серед них було вражено *Viscum album* особин *Acer platanoides* – 74, *Tilia cordata* – 19, *Betula pendula* – 3, *Robinia pseudoacacia* – 39, *Populus nigra* – 21. Найбільше омелою білою уражено дерев клена звичайного – 74, а найменше – дерев берези повислої – 3.

Виявлено випадки морфологічно відмінних рослин омели, що містяться навіть на одному дереві-хазяїні. Морфологічна різноманітність потребує окремого детального вивчення, як і причини, що до неї призводять.

Процеси диференціації відбуваються паралельно зі стрімким її поширенням як в Україні, так і в усій Європі (Таран та ін., 2008).

**Сопко В., Павлишак Я.**

#### СТАН ЗБЕРЕЖЕННЯ ПОПУЛЯЦІЙ РІДКІСНИХ І ЗНИКАЮЧИХ ВИДІВ РОСЛИН В УМОВАХ ПЕРЕДКАРПАТТЯ

*Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка*  
вул. Т. Шевченка, 23, м. Дрогобич  
bioddpu@ukr.net

**Sopko V., Pavlyshak Y.** STAN CONSERVATION OF POPULATIONS OF RARE AND ENDANGERED PLANT SPECIES IN THE PRECARPATHIAN REGION. Populations of rare and endangered plant species were studied of the flora was compiled. Found in the studied territories 30 plant species that are rare and endangered, belonging to 29 genera, 21 families and 2 departments. Established the systematic, ecological and economic analysis coenotic flora. The plant protection measures in the study are substantiated.

Одна з причин скорочення чисельності аж до повного зникнення видів рослин - це дія антропогенних факторів і руйнування природних місцезростань. Одним із напрямів збереження рослинного біорізноманіття є фітотомоніторинг, який передбачає як повну інвентаризацію флори, так і фрагментарні спостереження за певними категоріями видів рослин.

Дослідження проводили детально-маршрутним методом на території Дрогобицького району, використовуючи такі критерії: кількість, структура та причини зміни чисельності популяцій. Серед рідкісних видів за созологічним значенням виділяли такі дві категорії: регіонально рідкісні види (охороняються у Львівській області) та види, занесені до Червоної книги України (2009).

Як свідчать отримані результати, до складу раритетної компоненти району досліджень входять 30 видів рідкісних і зникаючих видів, що належать до 29 родів, 21 родини, 2 відділів. Основу флори рослин становлять представники Magnoliophyta – 95,2 %. Належать до 2 класів - Liliopsida і Magnoliopsida, у яких, відповідно, об'єднано 20 родин і 29 видів. Один вид (3,4 %) належить до Lycopodiophyta. Перше місце за кількістю видів посідають родин Orchidaceae Juss. та Ranunculaceae Juss., вони налічують по 4 види, що становить 13,3 %; по 2 види (6,6 %) займають родини Rosaceae Juss., Amaryllidaceae J. Saint-Hilaire та Iridaceae Juss. Одним видом представлені 16 родин, процентна частка 3,3 %.

Виявлено, що серед досліджуваних рослин домінує неморальний флороценотип, який становить 43,4 % (13 видів). Сюди належать такі представники, як *Corydalis cava* Schweigg. & Körte, *Allium ursinum* L., *Platanthera bifolia* (L.) Rich., *Polygonatum latifolium* L. Лучний флороценотип становить 40,0 % (12 видів) *Draba nemorosa* L., *Primula veris* L., *Viola epipsila* Ledeb. тощо. Трохи менше налічує гігрофільний спектр флори - 5 видів (*Orchis militaris* L., *Dactylorhiza majalis* (Rchb.) P.F. Hunt & Summerh., *Iris sibirica* L.), процентна частка 16,6 %.

У спектрі життєвих форм переважають криптофіти – 16 видів (53,3 %). Це, наприклад, *Veratrum nigrum* L., *Allium ursinum*, *Platanthera bifolia* тощо. Другою за чисельністю є група гемікриптофітів – 10 видів (33,3 %): *Hyperzia selago* (L.) Bernh. ex Schrank & Mart., *Viola epipsila*, *Senecio paludosus* L. тощо.

Передостаннє місце з-поміж типів життєвих форм займають фанерофіти і терофіти - по 2 види, частка яких становить 6,6 %.

Созологічний аналіз показав наявність у складі флори району 30 видів, які мають різний охоронний статус. До Червоної книги України включено 2 види статусу «зникаючий», 4 види статусу «вразливий», 7 видів статусу «рідкісний», 2 види статусу «неоцінені» (Червона книга України; Рослинний світ, 1994).

До переліку видів рослин, що підлягають особливій охороні на території Львівської області, внесено 15 видів (офіційний перелік регіонально рідкісних рослин, які охороняються рішенням Львівської обласної ради № 193 від 2 грудня 2003 р.).

Регіонально рідкісні види на території представлені видами *Pulmonaria angustifolia* L., *Corydalis cava*, *Draba nemorosa*, *Veratrum nigrum*, *Iris hungarica* Waldst. & Kit. тощо.

### **Сопушинська Т., Прокопів А.**

#### **ОКСИДАТИВНА ЄМНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ПЛОДІВ *SAMBUCUS NIGRA* L. І *SAMBUCUS EBULUS* L.**

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
sopushinskat@gmail.com

**Sopushynska T., Prokopiv A.** OXIDATIVE EFFECT OF *SAMBUCUS NIGRA* L. AND *SAMBUCUS EBULUS* L. FRUIT EXTRACTS. Previous studies have found that *Sambucus nigra* has a higher antioxidant activity than *Sambucus ebulus*, suggesting that this species is obviously more rational to use in phytotherapy or in the manufacture of drugs based on it. Oxidative capacity was assigned by DPPH analysis based on the ability of substances to exhibit antiradical properties, namely to absorb the free radicals of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, which in the effluent solution has a purple-black color, and when absorbed by its radicals, the substance has a light yellow color, indicating that the research substance exhibits antioxidant properties.

На сьогодні однією з причин виникнення патологічного стану рослин є оксидативний стрес, який зазвичай пов'язують із порушенням балансу між окисно-відновними процесами в організмі, що можуть бути викликані екзогенними чинниками. У результаті оксидативного стресу виникають модифікації, зокрема, ліпідів, білків і ДНК, які призводять до патологічних станів організму. Щоб зупинити процес утворення вільних радикалів, застосовують антиоксидантну терапію - призначають препарати з вмістом речовин, що нейтралізують хімічну активність молекул.

Пріоритетним завданням є пошук рослинних об'єктів, які містять сполуки з антиоксидантною дією та можуть бути використані у перспективі для створення лікарських препаратів. Для виявлення потенціалу рослин розглянули два види рослин із роду *Sambucus* L.: *Sambucus nigra* L. та *Sambucus ebulus* L., які, ймовірно, мають високу антиоксидантну дію.

У результаті попередніх досліджень вдалося встановити, що плоди *Sambucus nigra* мають вищу антиоксидантну активність, ніж плоди *Sambucus ebulus*, а це свідчить, що вид, очевидно, більш раціонально використовувати у фітотерапії або у виробництві лікарських препаратів на його основі.

Оксидативну ємність встановлено шляхом проведення DPPH аналізу, який базується на здатності речовин виявляти антирадикальні властивості - поглинати вільні радикали 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу зі зміною фіолетово-чорного забарвлення на світло-жовте, що засвідчує антиоксидантні властивості. Антирадикальна активність вимірюється у відсотках поглинутих радикалів (що менше значення, то більше радикалів поглинуто), вимірювання проводили на спектрофотометрі Genesys 20 за довжини хвиль 517 нм.

Із застосуванням методу DPPH виявили, що у плодів *Sambucus nigra* вища антиоксидантна активність ( $54,26 \pm 1,05$  %), ніж *Sambucus ebulus* ( $72,17 \pm 1,21$  %), що, ймовірно, пов'язано зі співвідношенням діючих антиоксидантних речовин.

### **Федюра Т., Гончаренко В.**

#### **АДВЕНТИВНА ФЛОРА ЗАЛІЗНИЦІ ЛЬВІВ - РАВА-РУСЬКА**

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
45rtgvherbarium@ukr.net

**Fediura T., Honcharenko V.** ADVENTIVE FLORA OF THE RAILWAY OF LVIV-RAVA-RUSKA. In the flora of Lviv - Rava-Ruska railway 115 adventitious species were found. A systematic analysis, analysis of life forms were conducted and division of adventitious species by the time and method of spreading and by the degree of naturalization was developed. Types of *Ambrosia artemisiifolia* L., *Phalacrologa annuum* (L.) Dumort., *Solidago canadensis* L. and *Conyza canadensis* (L.) Cronq. are intensively spreading nowadays and showing high invasive ability.

Особливий інтерес на сьогодні становлять угруповання транспортних комунікацій, зокрема, залізничних доріг. Велика протяжність і одноманітність технології будівництва робить їх коридорами, які поєднують

просторово розділені, екологічно й історично різні флори. При цьому залізничні шляхи сприяють поширенню адвентивних видів рослин (Протопопова та ін., 2003).

Для детального вивчення регіональної флори і тенденцій її розвитку необхідний аналіз її елементів. Оскільки одним із основних компонентів, який відіграє важливу роль у формуванні регіональної флори, є флора залізничних доріг, то вивчення цього типу флори має важливе значення (Звягінцева, 2013).

Дослідження адвентивної флори залізниці Львів - Рава-Руська проводили в зоні залізничних колій і на прилеглих територіях протягом осені 2018 р. та вегетаційного періоду 2019 р. Видову ідентифікацію проводили за «Визначником вищих рослин України» (1987). Для класифікації життєвих форм використано класифікацію екобіоморф рослин К. Раункієра. Групи адвентивних видів за часом занесення, способом занесення та ступенем натуралізації виділено на основі класифікації J. Kohns з доповненнями О. Г. Яворської (2002).

У флорі залізниці Львів - Рава-Руська виявлено 115 адвентивних видів, які спонтанно ростуть на території залізниці. Систематичний аналіз показав, що найбільшою родиною за кількістю видів є родина *Asteraceae*, до якої належить 40 видів. Представники цієї родини на багатьох територіях репрезентують адвентивну фракцію флори, зокрема, і на території України. Як показують результати низки досліджень, представники цієї родини формують рослинні угруповання залізничних шляхів, і родина *Asteraceae* є провідною або займає достатньо високі позиції у спектрах провідних родин флор антропогенно трансформованих територій, зокрема, залізниць (Третякова, 2006). Другу позицію займає родина *Brassicaceae* (16 видів), а третю позицію – родина *Poaceae* (15 видів). Такий розподіл загалом збігається зі спектром адвентивної флори для України (Протопопова, 1991). Перші позиції у спектрі провідних родів за кількістю видів займають роди *Acer*, *Amaranthus*, *Helianthus* та *Brassica* (по 3 види). Решта родів представлена невеликим числом видів або одинично. Види *Ambrosia artemisiifolia* L., *Phalacrolooma annuum* (L.) Dumort., *Solidago canadensis* L. та *Conyza canadensis* (L.) Cronq. тепер інтенсивно поширюються і виявляють високу інвазійну здатність.

За часом занесення серед адвентивних видів переважають археофіти, представлені 53 видами (45 % загальної кількості видів фракції). Кенофіти представлені 62 видами (55 % загальної кількості видів фракції).

За способом занесення переважають ксенофіти (110 видів). Ергазіофіти представлені 5 видами. За ступенем натуралізації переважають епекофіти - 88 видів. Агріепокофіти представлені 12 видами, колонофіти – 7 видами, агріофіти представлені 5 видами, а ефемерофіти - лише 3 видами.

За системою класифікації життєвих форм К. Раункієра в адвентивній флорі суттєво переважають терофіти – 81 вид. Фанерофіти представлені 11 видами, а гемікриптофіти - лише 3 видами. Переважна більшість видів трапляються по всій території дослідження.

**Фоменко М., Худич А., Чвіков В.**

#### НОВІ ВІДОМОСТІ ПРО БАЗИДИЄВІ МАКРОМІЦЕТИ НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ «ГЕТЬМАНСЬКИЙ» І ЙОГО ОКОЛИЦЬ

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна*

*Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна*

*chvikov.vladislav@gmail.com*

**Fomenko M., Khudych A., Chvikov V.** NEW DATA ABOUT BASIDIOMYCOTA MACROMYCETES OF THE HETMANSKYI NATIONAL NATURE PARK AND ITS VICINITIES. Information about 88 species of fungi from National Nature Park "Hetmanskyi", collected in October 2019, is presented. Some finds are new for this territory. One species – *Psathyrella microsporoides* Neukoop & G. Moreno is registered in Ukraine for the first time.

Національний природний парк «Гетьманський» створено 2009 року з метою охорони і раціонального використання типових та унікальних природних комплексів Лівобережного лісостепу.

Видовий склад макроміцетів заповідних урочищ природно-заповідного фонду Сумської області у 70-90-х роках минулого сторіччя досліджувала К.К. Карпенко (Карпенко, 2009). Сумарно було зареєстровано 323 види базидієвих грибів, але наразі їй дані потребують ревізії та доповнення. Території, які вивчала К.К. Карпенко, пізніше увійшли до складу НПП, але прилеглі ділянки досі залишаються недослідженими. Цікаві знахідки грибів з околиць національного парку можуть бути однією з підстав для його подальшого розширення.

Матеріали нашої роботи ґрунтуються на результатах опрацювання зразків, зібраних під час експедиції студентів і викладачів кафедри мікології та фітоімунології біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна у НПП «Гетьманський» 12-14 жовтня 2019 р. Визначення зразків проводили на кафедрі мікології та фітоімунології ХНУ за допомогою світлової мікроскопії з подальшим їхнім включенням до наукового мікологічного гербарію CWU (Muc).

У результаті проведеної роботи нами ідентифіковано 88 видів макроміцетів, які є представниками 5 порядків і 27 родин відділу Basidiomycota. У роботі К.К. Карпенко кількість порядків дорівнювала 12, а кількість родин - 57. Серед ідентифікованих грибів найвище різноманіття демонструє порядок Agaricales (76 видів), меншою кількістю видів представлені порядки Boletales (4), Hymenochaetales (2), Polyporales (3) та Russulales (3). Найбільшою кількістю видів представлена родина Мусценієві, трохи менше видів виявлено з родин Агарієві, Гуменогастрієві, Марасмієві, Омфалотієві, Псатирієві, Тріхоломатієві. Інші родини представлені поодинокими знахідками.

На досліджуваній території нами було виявлено низку рідкісних видів: *Psathyrella microsporoides* Heuкоор & G. Moreno, *Mycena zephirus* (Fr.) P. Kumm., *Conocybe juniana* (Velen.) Hauskn. & Svrček, *Xylobolus frustulatus* (Pers.) P. Karst. Уперше на території центральної частини НПП «Гетьманський» виявлено 32 види грибів.

*Psathyrella microsporoides* Heuкоор & G. Moreno виявлено вперше в Україні (Придюк, 2015).

Оскільки на території нагірної діброви поза межами парку виявлено низку рідкісних і цікавих видів грибів, ми маємо підстави говорити, що ця територія заслуговує на включення до НПП «Гетьманський».

**Darmostuk V.V.<sup>1</sup>, Sira O.Ye.<sup>2</sup>**

LICHENS AND LICHENICOLOUS FUNGI OF ARBORETUM “RAI (PARADISE)”  
(BEREZZHANY DISTRICT, TERNOPIL REGION)

<sup>1</sup>Kherson State University

27, Universytetska St., Kherson, 73000, Ukraine

<sup>2</sup>N.V. Karazin Kharkiv National University

4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

valeriidarmostuk@gmail.com

Biodiversity research is an important task of today and is aimed at natural objects as well artificial ones. Particularly important artificial centers of biodiversity are old parks and arboretums. This is due to several reasons. Firstly, they are primarily composed of many trees that do not naturally grow in these territory and near each other. Secondly, the concentration of large and old trees in one place increases over time. In this case, such objects may represent a potentially higher diversity of epiphytic species. This idea was confirmed by recent research of old parks in Kherson region (Khosodovtsev et al., 2019). They concluded that old parks are an important site of epiphytic diversity within steppe zone.

One of the such arboretums in Ternopil region is Arboretum “Rai” (Berezhany district). Generally, it is a park around manor. It was created in 1760 by the Hetman Adam Sinyavsky. In 1816, the park came into possession of Count Alexander Potocki, who remodeled it, taking over Sofiyivka in Uman. Currently, more over 50 trees species are growing in the park. This area has the status of park-monument of landscape architecture.

Field research of lichens and lichenicolous fungi was conducted in April 2019. The specimens were examined by standard microscope techniques using LOMO microscopes MBS–1 and MICROMED–2. All the examined specimens are deposited in the lichenological herbarium of Kherson State University (KHER).

43 lichens and 10 lichenicolous fungi are reported from Arboretum “Rai”. Among them *Chaenotheca ferruginea*, *Chaenotheca trichialis*, *Pachyphiale carneola* and *Physconia perisidiosa* are the first time reported to Ternopil region.

Generally, common community was found on deciduous tree trunk like *Fagus*, *Carpinus*, *Salix* ect. *Evernia prunastri*, *Lecanora argentata*, *Melanelixia glabrata*, *Parmelia sulcata*, *Phlyctis argena*, *Physconia grisea*, *Xanthoria parietina* are dominant species. More rare species in this community are *Eopyrenula leucoplaca*, *Flavoparmelia caperata*, *Lepra albescens*, *Pachyphiale carneola*, *Punctelia subrudecta* and *Xanthomendoza huculica*. Also, an interesting community present on *Larix* bark. *Hypocenomyce scalaris* has more than 50 % of projective coverage. It’s growing with *Chaenotheca ferruginea* and *C. trichialis*.

In case lichenicolous fungi, fortunately we collected an interesting species *Telogalla olivieri*. It species infected a widespread corticolous species *Xanthoria parietina*. This miscellaneous lichenicolous fungus was known from Ivano-Frankivsk region (Navrotskaya et al., 1996) and erroneously reported to Kherson region (Kondratyuk, 1999). This record is the second to Ukraine.

Thus, this arboretum represents a significant diversity of epiphytic lichens and lichenicolous fungi compared to neighboring territories. Therefore, studying such small objects is important for understanding the entire diversity of the region, since most of the research focuses on large, natural areas.

**Korbozova N.K.<sup>1,2</sup>, Terletska N.V.<sup>1,2</sup>, Kudrina N.O.<sup>1,2</sup>, Akhtaeva N.Z.<sup>1</sup>**

ANATOMICAL ANALYSIS OF RHIZOME AND ROOT OF *RHODIOLA SEMENOVII*

<sup>1</sup>NpJSC Al-Farabi Kazakh National University

<sup>2</sup>Republican State Enterprise «Central Laboratory of Biocontrol  
Certification and Preclinical Trials» SC MES RK, Kazakhstan

clbspi@nur.kz

For expand the range of domestic medicinal plant materials and to obtain new herbal remedies it is important to attract new species of wild flora (Mukhametkulova, 2005). The purpose of the study is to diagnose the anatomical features of the underground organs of *Rhodiola semenovii* (Regel & Herder) Boriss. (family Crassulaceae) (Kuliev, 2004). Object of study – rhizomes and roots of the perennial wild herb *Rhodiola semenovii* collected during the flowering and fruiting phase.

The following histochemical reactions were used to detect diagnostic features in the tissues of the underground organs of plant:

- 1) Lugol’s solution for starch and starch grains (coloured in blue, blue-violet);
- 2) 33% aqueous solution of sodium hydroxide for suberin in corc cell walls (coloured in red) (Grinkevich, 1983).



It was revealed that the surface of the rhizomes is covered with a smooth periderm. A layered corc consisting of 3-4 parallel layers of cells and thin layer of the parenchyma lying between them is visible on the transverse section of the rhizome. The phelloderm has clearly visible thickened cell walls. The main tissue of the rhizome is represented by spongy parenchyma, consisting of rounded cells with thick walls and abundant granular contents. Starch grains are simple, rounded or oval, 5-20 mkm in diameter.

Rhizome has a bundle structure. The vascular bundles are open, collateral, fusiform, arranged in a ring, oriented toward the periphery of the rhizome by the phloem and toward the center by the xylem. The rhizome of the *Rhodiola semenovii* is characterized by a weak development of phloem, in larger bundles it undergoes obliteration, and in small bundles it is often absent. The xylem vessels are narrow, with annular and helical-scalariform pitting, which is clearly visible on longitudinal sections where anastomoses of bundles or branches occur. Rhizome pith parenchyma consists of large cells filled with starch.

The following diagnostic features of the anatomical structure of underground organs in *Rhodiola semenovii* were revealed:

- light yellow colour of corc, detected during scraping the outer layer of cortex;
- a peculiar arrangement of phloem in the form of elongated sections;
- radial structure of xylem in root and one-layered arrangement of vessels in the center of the axial cylinder;
- the presence of simple starch grains in the parenchymal tissues of the rhizome and root.

**Leshchenko Yu.**

**CONOCYBE FAYOD AND PHOLIOTINA FAYOD FROM THE KHARKIV REGION,  
UKRAINE: A CRITICAL REVISION**

*V. N. Karazin Kharkiv National University  
4, Maidan Svobody, Kharkiv, 61022, Ukraine  
ljulianazt@gmail.com*

Both *Conocybe* Fayod and *Pholiotina* Fayod are large groups of fungi belonging to the family Bolbitiaceae Singer, characterized by dark brown or rusty-coloured spores, medium-sized (often small-sized) and delicate fruit bodies. All the species are presumed to be decomposers with widespread distribution in different types of plant communities. 51 species of *Conocybe* and *Pholiotina* are known in Ukraine (Prydiuk, 2015), although only 6 species were found in the Kharkiv region (Prylutskyi, 2018). The reason lies in insufficient taxonomic investigations, high macromorphological similarity and variability between the basidiomata of species, which leads to the appearance of subspecies and make the precise identification of taxa almost impossible. This leads to the accumulation of a large amount of collections material without identification. Thus, we assumed that these researches are still incomplete and require further investigations, especially in the North-East of Ukraine.

Species of this family are known from all continents except Antarctica, and distributed throughout climatic zones, ranging from tropical to arctic. They can be found in a wide variety of plant communities: in meadows, pastures, in forests, steppes, semi-deserts, on sand dunes, swamps and so on, from lowlands to alpine meadows, most often on neutral or alkaline soils. They are widespread in natural habitats; however, they are quite common in anthropogenically modified places, in particular, in gardens and parks (Prydiuk, 2015).

The aim of this work is to summarize the current knowledge about species diversity of the close genera *Conocybe* Fayod and *Pholiotina* Fayod and to provide the detailed descriptions of the species collected from Eastern Ukraine.

A critical revision of these taxa based on collections made in 2013–2016 from the Mycological Herbarium of V. N. Karazin Kharkiv National University - CWU(MYC). All specimens were collected in the Natural National Nature Park “Homilsha Forests”: mostly in the maple-lime oak forest, fewer in meadows, followed by soil roads and swamps. The results of the revision of herbarium collections clearly indicate that regional *Conocybe* and *Pholiotina* mycota supposed to be much larger than previously reported.

Presently, 14 species and varieties of *Conocybe* are known from the studied area amongst which 10 species are mentioned in the region for the first time: *Conocybe brachypodii* (Velen.) Hauskn. et Svrček, *Conocybe echinata* (Velen.) Singer, *Conocybe juniana* var. *juniana* (Velen.) Hauskn. et Svrček, *Conocybe juniana* var. *subsejuncta* Hauskn., *Conocybe macrospora* (G.F. Atk.) Hauskn., *Conocybe mesospora* Kühner et Watling, *Conocybe pulchella* (Velen.) Hauskn. et Svrček, *Conocybe rickeniana* P.D. Orton, *Conocybe semiglobata* Kühner ex Singer, *Conocybe subpallida* Enderle. Genus *Pholiotina*, however, was represented by the 4 species, 3 of them were found on the territory of the Kharkiv forest-steppe for the first time: *Pholiotina arrhenii* (Fr.) Singer, *Pholiotina dasypus* (Romagn.) P.-A. Moreau, *Pholiotina mairei* Kühner ex Watling.

We analyzed our findings in terms of their occurrence frequencies in the natural habitats. The metadata and photos of fresh fruit bodies and diagnostic microstructure are available through PlutoF database.

**Sobisz Z., Truchan M., Osadowski Z.**

THE FRINGE COMMUNITIES WITH *RUDBECKIA LACINIATA* L. ON THE CENTRAL POMERANIA

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewskiego Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: zbigniew.sobisz@apsl.edu.pl*

The paper presents the results of the research study into fringe communities with the participation of the *Rudbeckia laciniata* at the Central Pomerania. That area is situated over the postglacial stream valley of the Łeba River in the East and the Parsęta River in the West, constitutes a northern part of the Koszalin Coastland (Kondracki, 2004). The classification and nomenclature of syntaxa were adopted after Ratyńska et al. (2010) and the nomenclature of the vascular plants after Mirek et al. (2002).

Cutleaved coneflower was brought into Europe as a decorative species at the turn of the 16<sup>th</sup> and 17<sup>th</sup> centuries. Its occurrence in Paris was recorded in 1615 (Jalas, 1993). Its frequent cultivation in Europe contributed to its dispersion. The first station of plants was recorded in 1787 in an area that currently lies within Poland. Currently, it is frequently found in several areas in Germany, Austria, the Czech Republic, and Slovakia. For the last two countries, it has been considered an invasive species (Meusel et al., 1992). This species was brought to Poland in the 18<sup>th</sup> century (Kornaś, 1968). The first station the in Świeradów in Sudety Mts. (Fiek, 1787). Subsequent stations recorded in the next half-century were also located in this region. In eastern Poland, it was recorded by Drymmer (1881) in the Lublin Province and the Opoczno, Turek, and Sieradz. It was Szafer et al. (1924) who observed the Cutleaved coneflower moving readily in the wild places and noted that it could be found within species was recorded more frequently, especially in south-western Poland. Trzcńska-Tacik (1971) characterized this species as common all over Poland, dispersing without assistance, and also present in a semi-natural habitat. The regions it most frequently occurs in include the Sudety Mts. and Sudety Foreland, the Wielkopolska-Silesian Lowlands, the Silesian-Cracow Upland, the Małopolska Upland, and the Carpathian Basins. In this paper, the stands of *Rudbeckia laciniata* are the new ones in Northern Poland, not mentioned so far. Nowadays, cutleaved coneflower cause much economic and natural loss. They are especially hazardous in manor parks, gutters, and ditches. Currently, cutleaved coneflower is widespread on willow and willow-poplar cars on riverine and lacustrine banks as well as ruderal sites: fences, refuse heaps, around cottages and abandoned gardens.

During the research tests conducted in the period 2017-2019, 53 phytosociological relevés were taken with the application of the Braun-Blanquet's method generally used in Poland. Phytocoenoses with *Rudbeckia laciniata* were found in fringe communities from *Artemisietea vulgaris* Lohmeyer et al. in R.Tx. 1950 class and *Senecionion fluvatile* R. Tx. 1950 ex Lohmeyer 1953 alliance: *Sicyo-Echinocystietum lobatae* Fijałkowski 1978 ex Brzeg et M. Wojterska 2010, *Polygonetum cuspidati* (Moor 1958) Th. Müller et Görs 1969 ex Görs 1974, *Impatiens glanduliferae-Convolutetum sepium* (Moor, 1958) Hilbig 1972, *Fallopium-Humuletum lupuli* Brzeg 1989 ex Brzeg et M. Wojterska 2001, *Urtico-Calystegietum sepium* Görs et Th. Müller 1969. Cutleaved coneflower is characteristic species of association *Rudbeckio-Solidaginetum* R.Tx. et Raabe in R.Tx 1950 ex Anioł-Kwiatkowska 1974. It is one of the most common kenophytes occurring in Poland (Tokarska-Guzik, 2005). *It is accompanied by Echinocystis lobata, Impatiens glandulifera, I. parviflora, and Solidago gigantea.*

**Truchan M., Sobisz Z., Osadowski Z.**

FORMER MANOR PARK COMPLEX KRĘPA SŁUPSKA-LESZCZYCE (CENTRAL POMERANIA)

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewskiego Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: mariola.truchan@apsl.edu.pl*

Following the post-war inventory at Central Pomerania, there were 418 parks registered (Wendlandt and Szelągowska, 1992). They were established in the vicinity of the manor houses belonging to affluent German families (Duncker, 1857-1883; Sieber, 1959). Some of the park establishments at the territory of Słupsk Commune were founded on a basis of the existing tree stands or forest enclaves in the mid-fields areas. The villages of Krępa Słupska-Leszczycy are situated in the southwestern part of the Słupsk Commune. According to Solon et al. (2018), these places belong to the Koszalin Seacoast Macroregion and a mesoregion of the Słupsk Plain. The hitherto information about the park in Krępa was only fragmentary and related to a concise description of dendroflora (Sienicka and Kownas, 1965).

The field study of the vascular flora in Krępa Słupska-Leszczycy was executed in the period 2018-2019. The nomenclature of the vascular herbaceous plants was adopted after Mirek et al. (2002). The nomenclature of syntaxons was approached after Ratyńska et al. (2004). The terminology of trees and bushes, and within their area the terminology of subspecies, mixed-species and cultivars is by the study of Seneta and Dolatowski (2003). The classification of life forms presented by Raunkiaer (1905) was adopted according to Zarzycki et al. (2002). The information about the ranges was obtained from the studies of Chmiel (1993) Zajac (1979) and Zajac M. and Zajac A. (2009). The geographical and historical status of taxons and their affinity to social and ecological groups were established after Chmiel (2006).

The vascular flora in Krępa Słupska is represented by 328 taxons and in Leszczycy by 198 taxons, which belong to 76 families. The number of species in particular families varies from 1 to 41. The most numerous species are found in the following families: *Asteraceae* (41), *Rosaceae* (33), *Poaceae* (23), *Fabaceae* (18), *Lamiaceae* (16), *Brassicaceae*

and *Polygonaceae* (15 each). The sequence of the enumerated plants is close to the sequence provided for Poland's flora (Pawłowska 1977). The variation of the number of species in genii is from 1 to 6. The taxons found in the area of parks were classified into 250 kinds, of which 176 are the kinds represented by individual species. The most numerous kinds are *Polygonum*, *Rumex* and *Veronica* (6 taxons each), *Acer* and, *Salix* (5 taxons each) and *Galium*, *Poa*, *Prunus*, *Quercus*, *Rosa*, *Stellaria*, *Tilia*, *Ulmus* and *Vicia* (4 taxons each). The participation of five basic life groups (phanerophytes, chamaephytes, hemicryptophytes, cryptophytes, and therophytes) is typical for the flora of Poland. Also in the flora of manor parks, there is a visible dominance of hemicryptophytes and therophytes which in total constitute 211 species in Krępa Słupska and 116 in Leszczyce. The well-established anthropophytes are dominated by archeophytes in Krępa Słupska 10,6%, and in Leszczyce 11,8%). Archeophytes are dominated by the species connected with agriculture. They comprise: *Arabidopsis thaliana*, *Capsella bursa-pastoris*, *Papaver rhoeas*, *Raphanus raphanistrum*, *Scleranthus annuus*, *Spergula arvensis*, *Thlaspi arvense*, *V. angustifolia*, and *Viola arvensis*. At the premises of Krępa Słupska-Leszczycze manor-park complex, the following species under protection: *Colchicum autumnale*, *Epipactis helleborine*, *Galanthus nivalis*, *Leucojum vernum*, *Lilium martagon*, *Lonicera periclymenum*, *Ononis spinosa*, *Pinus mugo*, *Sorbus intermedia*, and *Taxus baccata*. Except for *Epipactis helleborine*, they represent an adventive element in Pomerania.

## ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ / GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

**Бабко А., Громико О., Тістечок С., Федоренко В.**

АНТИБІОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АКТИНОМІЦЕТІВ РИЗОСФЕРИ *OLEA EUROPAEA* L.  
ПРОТИ ЗБУДНИКІВ ВНУТРІШНЬОЛІКАРНЯНИХ ІНФЕКЦІЙ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
hr.anastasia.t@gmail.com

**Babko A., Gromyko O., Tistechok S., Fedorenko V.** ANTIBIOTIC ACTIVITY AGAINST MICROORGANISMS THAT CAUSE HOSPITAL INFECTIONS OF STRAINS FROM *OLEA EUROPAEA* L. RHIZOSPHERE. The aim of our work was to identify strains of actinomycetes capable of synthesizing compounds with antibiotic activity against bacteria that cause hospital infections. Screening was performed in 129 strains. Altogether, we found 128 antibiotic activities against six test cultures. The further analysis of secondary metabolites from these strains will enable the identification of compounds that provide their antibiotic activity.

Сьогодні відомо понад 200 мікроорганізмів, які можуть бути причиною внутрішньолікарняних інфекцій. За оцінками Центру з контролю та профілактики захворювань, тільки у США щорічно реєструють близько 1,7 млрд випадків внутрішньолікарняних інфекцій і 99 тис. смертей (Lee M, Greig J, 2013). Швидкі темпи розвитку резистентності до антибіотиків у мікроорганізмів зумовлюють складність терапії інфекцій, які вони викликають. З огляду на це, сучасні дослідження спрямовані на пошук нових біоактивних сполук із антимікробною дією.

Актиноміцети синтезують цілу низку промислово важливих сполук (вітаміни, амінокислоти, ферменти), однак насамперед вони є продуцентами найбільшої кількості відомих на сьогодні антибіотиків з антимікробною, протипаразитарною, протипухлинною та іншими активностями. Геномне профілювання представників найчисленнішого роду актиноміцетів – *Streptomyces* - показав, що у їхніх геномах може міститися більше 20 кластерів біосинтетичних генів вторинного метаболізму, багато з яких досі не досліджені (Ohnishi Y., 2008). Це вказує на подальшу перспективність скринінгу нових біологічно активних сполук, особливо антибіотиків, актиноміцетного походження.

Метою нашої роботи було виявити штами актиноміцетів, що здатні синтезувати сполуки з антибіотичною дією щодо бактерій, які викликають типові штами хвороботворних мікроорганізмів.

У роботі використано 129 штамів актиноміцетів ризосфери маслини європейської *Olea europaea* L. Для вивчення антимікробних властивостей застосовано такі тест-культури: грампозитивні бактерії *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, грамнегативні бактерії *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 29905 та дріжджовий гриб *Candida albicans* ATCC 885-653.

Найбільш чутливим до дії актиноміцетних метаболітів серед досліджених бактерій виявився штам *S. aureus*, чий ріст пригнічували 26,4 % ізолятів з індексом активності (ІА) 1,3-10,8. Проти *E. coli* виявили антагоністичні властивості 21,7 % ізолятів з ІА 1,2-4,0. Ріст штаму *C. albicans* був пригнічений метаболітами 19,4 % актиноміцетних культур з ІА 1,1-3,2. 15,5 % ізолятів пригнічували ріст *K. pneumonia* з ІА 1,3-4,4. Проти *P. vulgaris* виявили антагоністичні властивості 14,7 % досліджених актиноміцетів з ІА 1,3-4,0. Найстійкішими до дії метаболітів серед використаних тест-культур виявилися бактерії *P. aeruginosa*. Їхній ріст пригнічувало тільки 1,6 % актиноміцетів з ІА 1,5-2,5. 11 актиноміцетних ізолятів специфічно пригнічували ріст тест-культури *S. aureus*, 5 штамів - *C. albicans*, 3 штами - *E. coli* та *P. vulgaris*, 1 - *K. pneumonia*.

Виявлено ізоляти актиноміцетів з широким спектром антибіотичної активності, серед яких 2 штами затримували ріст усіх використаних тест-культур. Подальші дослідження й аналіз вторинних метаболітів у цих штамів дадуть змогу ідентифікувати сполуки, які забезпечують їхню антибіотичну активність проти досліджених бактерій.

**Багниук О.<sup>1</sup>, Фінюк Н.<sup>1,2</sup>, Ключівська О.<sup>2</sup>, Свириденко М.<sup>1</sup>, Шийка О.<sup>1</sup>, Стойка Р.<sup>1,2</sup>**

МОНІТОРИНГ АНТИНЕОПЛАСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ *IN VITRO*  
НОВОСИНТЕЗОВАНИХ ПОХІДНИХ ТРІАЗОЛІВ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України  
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79000, Україна  
Olenab36@gmail.com

**Bahniuk O., Finiuk N., Klyuchivska O., Svyrydenko M., Shyika O.** MONITORING OF ANTINEOPLASTIC ACTIVITY *IN VITRO* OF NEWLY SYNTHESIZED TRIAZOLE DERIVATIVES. Triazole is a heterocyclic compound that contains three nitrogen atoms and exhibits versatile biological activities. In this work, we have monitored the anticancer activity of new 43 triazole derivatives. Compounds 436 and 455, 457, 459 possessed high toxicity towards carcinoma cells of A549, HepG2, KB3-1, MCF-7 lines.

Одна з найбільших проблем сучасної медицини - низька селективність протипухлинних препаратів. Крім того, швидко розвивається резистентність клітин до цих препаратів. Тому актуальним залишається пошук нових високоефективних і селективних хіміопрепаратів. Похідні 1,2,4-триазолів зарекомендували себе як високоефективні лікарські препарати різнобічної дії, а саме протигрибкові (флуконазол, ітраконазол), протівірусні (рибавірин), протипухлинні (летрозол), транквілізатори (тразодон, алпразолам) та ін. Арсенал лікарських засобів продовжує поповнюватися новими представниками цього класу сполук. У даній роботі ми здійснили моніторинг протипухлинної активності нових S-алкілованих похідних 4-аміно-1,2,4-триазолу та їхніх анельованих аналогів – [1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]гіадіазилах.

Протестовано 43 речовини на їхню токсичність щодо пухлинних клітин різного тканинного походження, а саме: клітин карциноми легені (A549), гепатокарциноми (HepG2), карциноми шийки матки (KB3-1), аденокарциноми молочної залози (MCF-7), а також до псевдонормальних клітин (клітин нирки ембріона людини (HEK293), фібробластів миші (NIH3T3), макрофагів миші (J774.2)). Доксорубіцин слугував позитивним контролем.

Виявлено, що макрофаги миші лінії J774.2 є більш чутливими до токсичної дії 25-ти досліджуваних речовин ( $IC_{50} = 0,75-21,11$  мкМ). 18 речовин були малотоксичними для макрофагів ( $IC_{50}$  більше 40 мкМ). Таку чутливість макрофагів можна пояснити специфікою взаємодії даного типу клітин із речовинами у їхнім мікрооточенні. Активне накопичення цих речовин шляхом ендцитозу призводить до їхньої цитотоксичної дії.

Показник цитотоксичності  $IC_{50}$  16-ти речовин для клітин лінії HEK293 становив 5,5–57,2 мкМ, для 27-ми речовин  $IC_{50}$  перевищує 100 мкМ. Показник цитотоксичності  $IC_{50}$  13-ти речовин для клітин лінії NIH3T3 становив 5,44–66,25 мкМ, для 30-ти речовин  $IC_{50}$  перевищує 100 мкМ. Слід зазначити, що дані речовини були менш токсичними щодо клітин ліній J774.2, HEK293, NIH3T3, ніж доксорубіцин ( $IC_{50}$  дорівнював 0,7 мкМ, 1,3 мкМ і 1 мкМ, відповідно).

Ми зосередили увагу на лініях карциномних клітин епітеліоїдного генезу, оскільки новоутворення даного типу є найбільш поширеним і можуть мати нестандартну чутливість до хіміопрепаратів. Серед досліджуваних речовин сполуки 436, 501 найсильніше інгібували ріст клітин лінії A549, ( $IC_{50}$  рівновеликий 0,95 мкМ і 9,1 мкМ, відповідно). Показник  $IC_{50}$  речовин 436, 337, 455, 456, 457, 459, 463, 467 для клітин лінії HepG2 був меншим ніж 10 мкМ. Щодо клітин лінії KB3-1 сполуки 440, 436, 337, 455, 457, 459, 465, 483, 485, 488 мають токсичність ( $IC_{50} \leq 10$  мкМ). Речовини 503, 493, 459, 483 виявляють токсичність щодо клітин лінії MCF-7 ( $IC_{50} \leq 10$  мкМ).

На підставі одержаних даних можна зробити висновок про перспективність подальшого дослідження сполук 436, 455, 457, 459 як протипухлинних чинників.

### **Ботсеровська А., Остап Б.**

#### СИСТЕМИ ТРАНСПОРТУВАННЯ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ

#### У АКТИНОБАКТЕРІЙ: СТВОРЕННЯ МАСИВУ ДАНИХ І ПОЧАТКОВИЙ ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*nastbots@gmail.com*

**Botserovska A., Ostash B.** SYSTEMS OF SECONDARY METABOLITES TRANSPORT IN ACTINOBACTERIA: GENERATION OF DATASETS AND THEIR INITIAL PHYLOGENETIC ANALYSIS. There is growing body of data on evolution of different subsets of genes for secondary metabolism in actinobacteria. To the best of our knowledge, there were no attempts of phylogenetic analysis of actinobacterial genes involved in export of secondary metabolites produced by these microorganisms. To this end, we mined actinobacterial secondary metabolism biosynthetic gene clusters (BGCs) for transporter genes and developed to major datasets: one uniting all ATP-dependent transporters, and the second for proton-dependent antiporters. We also revealed a large number of BGCs that lack any apparent transporter genes. Protein trees were reconstructed on the basis of these datasets.

Вторинні метаболіти – низькомолекулярні сполуки, які утворюються із первинних метаболітів і безпосередньо не беруть участі у важливих біохімічних реакціях в організмі. Виведення цих токсичних продуктів обміну регулюється наявністю генів транспорту в геномі. Є два основних типи транспортерів: ABC- та MFS-транспортери. Перший тип – це білки, які використовують енергію АТФ під час експорту метаболітів (Saurin W. et al., 1999), другий – трансмембранний протонний градієнт (Paulsen I. T. et al., 1996).

В актинобактерій гени біосинтезу вторинних метаболітів зібрані у кластери (BGCs), які зазвичай містять також гени транспорту. На сьогодні не вивчено коєволюцію систем біосинтезу і транспорту вторинних метаболітів. Незрозуміло, чи корелює філогенетична спорідненість транспортерів з хімічною будовою сполук, які вони експортують (Ming Ren Yen et al., 2009). Мета цієї роботи – ідентифікація в усіх BGC актинобактерій генів-транспортерів і їхній початковий філогенетичний аналіз.

Проаналізовано секвеновані геноми, анотовані на NCBI. Для отримання масиву інформації використано базу даних BGC – MIBiG. Усього ідентифіковано 658 генів, задіяних у транспорті сполук із клітини, з них 481 ABC-транспортерів і 177 MFS-транспортерів. У 543 BGC не виявлено генів транспорту. Імовірно, транспортування цих вторинних метаболітів контролюють гени за межами BGC.

Виконано попередній аналіз масиву транспортерів за алгоритмами філогенетичної реконструкції Maximum Likelihood і Neighbor-Joining. Аналіз отриманих дерев білків дасть змогу виявити, чи групують разом транспортери, що контролюють експорт структурно споріднених сполук.

**Бучок Ю., Конечна Р., Новіков В.П.**

#### БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* *THALICTRUM AQUILGIIFOLIUM*

Національний університет «Львівська політехніка»

вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна

*Yuliia.I.Kolb@lpu.ua*

**Buchok Y., Konechna R., Novikov V.** BIOTECHNOLOGICAL CULTIVATION *IN VITRO* *THALICTRUM AQUILGIIFOLIUM*. The *Ranunculaceae* family is celebrated by high variability in the characteristics of the generative and vegetative organs, which indicates a high content of biologically active substances in the plants of the family *Ranunculaceae*. The biotechnological method of *in vitro* cultivation is always relevant and promising in plant research. The cultivation method selected the condition and obtained callus biomass *Thalictrum aquilgiifolium*.

Родина *Ranunculaceae* включає близько 50 родів і понад 2 тис. видів рослин, зокрема, і лікарських. У складі родини також є отруйні сильнодіючі лікарські рослини. Хімічний склад лікарських рослин родини *Ranunculaceae* представлений алкалоїдами, глікозидами, сапонінами, леткими речовинами з різким запахом і пекучим смаком, які спричиняють отруйність багатьох видів. Найбільш отруйними є алкалоїди виду *Aconitum*, проте наявність перелічених вище речовин зумовлює і лікувальні властивості родини *Ranunculaceae* (*Adonis*, *Pulsatilla*, *Helleborus*, *Clematis*, *Ranunculus*).

Рутвиця орликолиста (*Thalictrum aquilgiifolium*) – багаторічна трав'яниста рослина роду Рутвиця (*Thalictrum*) родини Жовтецеві (*Ranunculaceae*) (Крупкіна, 2001). *Thalictrum aquilgiifolium* – отруйна рослина (Новіков, 2008). Наземна частина містить 0,1-0,3 % алкалоїдів (ізокоридин, тальмін, тальмідин, магнофлорин, берберин), кумарини, ціаногенні сполуки (лінамарин, п-глюкозилгідроксиманделонітрил, р-глюкозид п-глюкозилгідрокси-манделонітрилу), флавоноїди (кемферол, кверцетин, апігенін, лютеолін), фенолкарбонові кислоти (п-кумарова, ферулова, кавова, синапова). *Thalictrum aquilgiifolium* має антибактеріальні, протизапальні, кровоспинні, болетамувальні й сечогінні властивості. У народній медицині рослину використовують для лікування жовтяниці, водянки, епілепсії, маткових кровотеч, малярії, дерматозів, ревматизму (Лікарські рослини, 1980).

Сучасний екологічний стан, потужні антропогенні чинники зумовлюють зменшення природних запасів даної рослини. Пошук альтернативних сировинних джерел є актуальним питанням сучасної науки. Культивування *in vitro* має низку переваг і можливостей: застосування мінімальної кількості вихідних матеріалів; отримання генетично однорідного матеріалу незалежно від сезону та пори року і т.п. (Подгаєцький А.А., 2018).

Мета роботи – одержати калусну біомасу *Thalictrum aquilgiifolium* біотехнологічним методом.

У роботі використано насіння *Thalictrum aquilgiifolium*, заготовлене у 2018 р.

Початковим етапом біотехнологічного культивування *in vitro* є стратифікація та стерилізація насіння. Стратифікацію насіння *Thalictrum aquilgiifolium* проведено холодною стерильною водою протягом 24 год. Стерилізацію насіння проведено 70 % етанолом протягом 5 хв, 30 % перекисом водню протягом 10 хв з подальшим 3-разовим промиванням дистильованою водою. Насіння *Thalictrum aquilgiifolium* введено в культуру *in vitro* на стерильне середовище Мурасиге-Скуга й одержано стерильні проростки рослин заввишки 1,5-2,5 см через 21 день. Одержані проростки розділено на експланти розміром 0,3-0,5 см і пересажено на агаризоване модифіковане середовище Мурасиге-Скуга з додаванням регуляторів росту. Використано такі регулятори росту: індолілоцтова кислота (ІОК) (2,0; 3,0 мг/л),  $\alpha$ -нафтил-1-оцтова кислота (НОК) (0,1; 0,5; 1,0 мг/л), 2,4-дихлорофеноксіцтова кислота (2,4-Д) (0,5; 1 мг/л), бензиламінопурин (БАП) (0,5; 1,0; 3,0 мг/л) і кінетин (0,5 мг/л).

Отже, за використання біотехнологічного методу культивування *in vitro* одержано калусну біомасу через 20 діб розміром 0,5-1 см зеленого кольору, пористу і відносно рихлої консистенції. Отриманий калус висушено і використано для подальших досліджень.

**Вознюк А., Кужик Ю., Осташ Б.**

#### БІЛКИ РОДИНИ LSR ЯК РЕГУЛЯТОРИ ВТОРИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ *STREPTOMYCES GHANAENSIS* ATCC14672

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

*nastavoznuk407@gmail.com*

**Voznyuk A., Kuzhyk Y., Ostash B.** PROTEINS OF THE LSR FAMILY AS REGULATORS OF SECONDARY METABOLISM OF *STREPTOMYCES GHANAENSIS* ATCC14672. Secondary metabolites are produced by microorganisms and plants. These natural products are widely used in pharmacology and agriculture. Among microorganisms, bacteria of genus *Streptomyces* are the most prolific producers of secondary metabolites. Lsr2 is a histone-like protein,

which binds AT-rich sequences of DNA. Manipulation of Lsr2-encoding gene in *Streptomyces ghanaensis* led to altered levels of antibiotic activity.

Природні продукти, або вторинні метаболіти продукуються мікроорганізмами та рослинами і широко використовуються у фармакології та сільському господарстві. Серед мікроорганізмів рід стрептоміцетів є найбільш багатим продуцентом вторинних метаболітів. Це ґрунтові бактерії, що відіграють важливу роль у кругообігу Карбону. Становить значний інтерес вивчати регуляцію вторинного метаболізму, оскільки це допоможе підвищити рівень продукції відомих вторинних метаболітів і виявити нові.

У всіх стрептоміцетів наявні паралоги Lsr2 (Lsr2- SVEN\_3225 та LsrL- SVEN3832). Lsr2 – це невеликий гістоноподібний білок, який зв'язує AT-багаті послідовності ДНК. Lsr2 складається з 2 функціональних модулів: N-кінцевий домен олігомеризації з 2 сайтами димеризування та C-кінцевий ДНК-зв'язувальний домен. Нещодавно показано, що делеція гена *lsr2* у *S. venezuelae* викликає зміни у спектрі синтезованих антибіотиків. Ми вирішили перевірити роль гена *lsr2* у вторинному метаболізмі *Streptomyces ghanaensis*.

Штам *S. ghanaensis* відомий як продуцент моеноміцинів і впродовж багатьох років досліджується в нашій лабораторії. Наразі невідомо, які ще антибіотики може продукувати цей штам, окрім моеноміцинів. Ми використали домінантно-негативну алель гена, що кодує Lsr2 (плазмідна рМС109), оскільки він дасть змогу за умов надекспресії викликати зниження активності Lsr2 у клітинах *S. ghanaensis*. Виявлено, що рМС109-вмісні штами *Streptomyces ghanaensis* відрізняються від вихідних за рівнем антибіотичної активності за низки умов культивування.

**Григорчук Д.<sup>2</sup>, Рабокони А.<sup>1</sup>, Пірко Я.<sup>1</sup>, Пірко Н.<sup>1,2</sup>**

#### ПОЛІМОРФІЗМ БДЖІЛ ІЗ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ МАРКЕРАМИ

<sup>1</sup>ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»  
вул. Осиповського, 2А, м. Київ, 04123, Україна

<sup>2</sup>ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ імені Тараса Шевченка  
nato-@ukr.net

**Hryhorchuk D., Rabokon A., Pirko Y., Pirko N.** POLYMORPHISM IN HONEY BEES FROM DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE ANALYZED BY THE SSR-MARKERS. Nowadays in Ukraine uncontrolled hybridization of different honey bee subspecies takes place. This is why it is necessary to analyze current genetic structure of honey bee populations and make efforts to protect the local subspecies. Our analysis was performed by using two SSR-markers (Ac 011 and A 007). We analyzed the sample of 77 honey bees (workers and male-bees) collected from different regions of Ukraine. PIC values were obtained for the whole sample (0,738 for A 007 and 0,688 for Ac 011), as well as for each family, collected bees originated from, and for male-bees and workers separately. Male-bees appeared to be more polymorphic than workers.

Бджола медоносна (*Apis mellifera*) відіграє важливу роль у підтриманні стану екосистем і використовується у сільському господарстві. Раніше на території України існувало три підвиди бджіл – *A.mellifera macedonica*, *A.mellifera mellifera*, *A.mellifera carnica*. Вони мають певні господарсько-корисні ознаки та є пристосованими до характерних для даної території умов довкілля. Однак тепер відбувається безконтрольна гібридизація бджіл унаслідок завезення інших підвидів і переміщення підвидів, що населяють Україну. Тому необхідно встановити генетичну структуру популяції бджіл в Україні та вживати заходи зі збереження місцевих підвидів. Щоб диференціювати бджіл на підвиди, використовують морфометричні методи, але вони потребують підтвердження молекулярно-генетичними методами. Було проаналізовано бджіл із різних регіонів України за двома мікросателітними маркерами (Ac 011 та A 007) (Solignac, 2003). Усього відібрано 77 зразків: по 5 трутнів і 5 робочих особин із 4 сімей і 2 трутні та 5 робочих особин із п'ятої сім'ї зі с. Халеп'я (Київська область, Україна); 5 трутнів і 5 робочих особин із м. Гадяч (Полтавська область, Україна) і по 10 робочих особин із м. Мукачєво (Чернівецька область, Україна) та с. Петровівка (Одеська область, Україна). Трутнів відбирали через те, що вони отримують гаплоїдний набір хромосом лише від матки, і цей набір потім подвоюється. Тому під час аналізу трутнів і робочих особин із однієї сім'ї можна визначити, який алель бджола успадкувала від матки, а який – від трутня. Була проведена ПЛР із праймерами до відповідних мікросателітних маркерів, після цього амплікони розділяли за допомогою вертикального електрофорезу в ПААГ. Після аналізу електрофореграм виявлено, що в даній вибірці є по 4 алелі для кожного з маркерів. Для Ac 011 – це фрагменти довжиною 115, 117, 120 та 125 бп, для A 007 – 108, 113, 117 та 132 бп. Також під час аналізу виявлено 4 трутні, які не могли належати до сімей, із яких їх відібрали. Вони мали алелі, яких не було у жодного іншого зразка з тієї ж сім'ї. Ці особини не враховували у подальшому аналізі. Визначали PIC (polymorphism information content) як для кожної з аналізованих сімей, так і для всієї вибірки. Уся вибірка показала високу поліморфність, однак вона виявилася більш поліморфною за маркером A 007, ніж за маркером Ac 011. PIC для всієї вибірки становив 0,738 для A 007 і 0,688 для Ac 011. Окремі сім'ї також були більш поліморфними за A 007 і мали досить високий рівень поліморфізму. За визначення PIC окремо для вибірки трутнів і окремо для робочих особин трутні виявилися більш поліморфними за обома маркерами: 0,665 - для трутнів і 0,647 - для робочих особин за Ac 011, і 0,737 - для трутнів та 0,735 - для робочих особин за A 007.

У подальшому плануємо збільшити кількість маркерів, за якими аналізуватиметься вибірка, та здійснити морфометричний аналіз.

**Денека М., Остап Б., Остап І.**

**ВПЛИВ ГЛОБАЛЬНОГО РЕГУЛЯТОРА *DASR* І ШЛЯХ-СПЕЦИФІЧНОГО РЕГУЛЯТОРА БІОСИНТЕЗУ ЛЮЦЕНЗОМІЦИНУ *LCMRIII* НА ВТОРИННИЙ МЕТАБОЛОМ ШТАМІВ *STREPTOMYCES***

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*deneka803@gmail.com*

**Deneka M., Ostash B., Ostash I.** EFFECT OF GLOBAL *DASR* AND LUCENSOMYCIN PATHWAY-SPECIFIC *LCMRIII* REGULATORS ON SECONDARY METABOLOME OF *STREPTOMYCES*. Today, it is interesting to study the genes for regulators of secondary metabolism in bacteria. Studying the action of gene regulators will help to better understand the biosynthetic pathways of certain secondary metabolites, and will help to understand how to potentially increase their production. This study shows the effect of global and pathway-specific regulator expression on the secondary metabolism of some strains of *Streptomyces*.

Геноми стрептоміцетів містять арсенал кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів, потенційного джерела антибіотиків, імуносупресантів, протипухлинних агентів. Як правило, більшість цих кластерів є криптичними за лабораторних умов і підлягають глобальній та шлях-специфічній регуляції. У геномі *Streptomyces cyanogenus* S136 виявлено понад 30 таких криптичних кластерів. У попередніх дослідженнях активовано кластер біосинтезу люцензоміцину, протигрибкового антибіотика поліенового ряду. У *S. cyanogenus* дикого типу кластер біосинтезу цієї сполуки є криптичним. Ген *lcmRIII* кодує транскрипційний активатор кластера генів біосинтезу люцензоміцину (*lcm*-кластер). Надекспресія цього регулятора призвела до активації біосинтезу люцензоміцину попри біосинтез ландоміцину.

У цій роботі ми дослідили, чи здатен *LcmRIII* активувати *lcm*-кластер за умов синтезу ландоміцину і як загалом він може впливати на вторинний метаболізм стрептоміцетів. Ми експресували ген *lcmRIII* у нативному штамі *S. cyanogenus* S136 і в гетерологічних штаммах – *S. albus* SAM2 та *S. roseochromogenes* NRRL3504. Дослідження екскон'югантного штаму *S. albus* із гетерологічною експресією гена *lcmRIII* показало, що немає жодних змін у біосинтетичній активності порівняно з *S. albus* дикого типу, проте спостерігаються зміни у його морфології. Ми спостерігали збільшення протибактерійної активності штаму *S. roseochromogenes* з експресією *lcmRIII* порівняно з штамом дикого типу. Ймовірно, експресія цього регулятора, призвела до активації нової протибактерійної сполуки або до збільшення біосинтезу хлоробіоцину – протибактерійного антибіотика, що синтезує *S. roseochromogenes*.

Глобальна регуляція метаболізму *S. cyanogenus* практично не досліджена. Регулятор поглинання *N*-ацетилглюкозаміну, білок *DasR*, пригнічує транскрипцію низки генів первинного і вторинного метаболізму. Нами введено додаткову копію гена *dasR* під нативним промотором у штамі S136, щоб оцінити його вплив на синтез ландоміцинів.

Отриманий штам має підвищений рівень синтезу ландоміцинів А та В порівняно з диким типом.

Подальше дослідження генів *dasR* та *lcmRIII* дасть змогу краще зрозуміти регуляцію вторинного метаболізму та механізм одночасного синтезу кількох вторинних метаболітів.

**Загородня Д., Петріна Р.**

**ПОШУК НОВИХ РЕЧОВИН ПРОТИПУХЛИННОЇ ДІЇ У БІОМАСІ *DELPHINIUM ELATUM***

*Національний університет «Львівська політехніка»*  
*вул. Степана Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна*  
*zagorodnyay.1996@gmail.com*

**Zahorodnia D., Petrina R.** SEARCH FOR NEW COMPOUNDS WITH ANTITUMOR EFFECT IN BIOMASS OF *DELPHINIUM ELATUM*. Currently it is an under-researched plant of the species *Delphinium elatum*, which grows in the Ukrainian Carpathians and is listed in the Red Book. In order to conserve and endangered biodiversity plants use of tissue culture method is suggested. The purpose of this work is to obtain *in vitro* callus biomass of *D. elatum* to determine metabolites such as phenolic compounds, flavonoids, terpenes, alkaloids, etc.

Від онкологічних захворювань у світі помирає більше 8,2 млн людей щороку, з яких 90 тис. - в Україні. Ні вік, ні стать, ні національність не є перешкодою, адже онкологічні захворювання поширені в усіх країнах, посягаючи на життя не тільки дорослих, але й дітей. І сумна статистика підтверджує: за останні 100 років онкопатологія в Україні перемістилася з десятого місця на друге. У Єврокомісії 4 лютого 2020 р. оголосили про намір посилити боротьбу з онкохворобами, а саме посилити координацію співпраці лікарів, науковців і політиків. Тому пошук нових речовин протипухлинної дії рослинного походження є дуже актуальним.

До таких сильнодіючих речовин належать дитерпенові алкалоїди, група структурно складних природних продуктів, що демонструють широкий спектр хімічних властивостей і біологічної активності.

Цей клас алкалоїдів розглядають як «псевдоалкалоїди», або «криптоалкалоїди», отримані в результаті амінування тетрациклічних дитерпенів у природі. У літературі описано вивчення і виділення з рослин



роду *Delphinium* ряду дитерпенових алкалоїдів і флавоноїдів. Крім протипухлинної дії, ці рослини мають анальгетичну, протизапальну, антимікробну, кардіологічну, антиаритмічну та курареподібну активність, що пов'язано з іншими групами речовин, фенольними сполуками, флавоноїдами тощо. Є повідомлення про дитерпенові алкалоїди *Delphinium elatum*, які проявляють цитотоксичну активність щодо клітинних ліній раку носоглотки, а також резистентні до клітинних ліній раку легень, простати, носоглотки.

*D. elatum* росте в Україні, є рідкісним видом і занесений до Червоної книги. Тому доцільним є одержання його біомаси в умовах *in vitro* з метою збереження популяції.

Мета роботи - одержати біомасу *D. elatum* в умовах *in vitro* й ідентифікувати у ній метаболіти.

Біомасу *D. elatum* одержано на середовищі Мурасиге-Скуга за температури 23 °С, освітлення 2000 лк, фотоперіоду 16/8 год в умовах *in vitro*. Для ініціації калусогенезу додано в середовище 2,0 мг/л β-індолилцетової кислоти, 1,0 мг/л α-нафтилоцетової кислоти і 0,5 мг/л кінетину. Через 50 діб знято калусну біомасу, висушено й отримано екстракти у співвідношенні біомаса/екстрагент – 1/10. Як екстрагент використано 70%-ний етиловий спирт. Настояно 7 діб, після чого екстракт відфільтровано й ідентифіковано на наявність загальних екстрактивних речовин, флавоноїдів, алкалоїдів і терпенів. Використано якісні реакції на ці групи сполук, а також спектрофотометричні методи визначення. Результати досліджень: загальна кількість екстрактивних речовин – 0,28 мг/мл, алкалоїдів – 1,75 %, терпеноїдів – 2,58 %, фенольних сполук – 21,42 мгГК/г, флавоноїдів 24,86 мгРУ/г.

Отримано калусну біомасу *D. elatum* і визначено метаболіти, які в ній є, загальні екстрактивні речовини, фенольні сполуки, флавоноїди, терпени, алкалоїди. Речовини, що були визначені, мають різну біологічну роль, тому знання про активні сполуки в рослині забезпечить більш ефективне і ширше застосування їх як протипухлинних засобів.

### **Заїка С.В., Дрозд О.М., Кондратюк В.В.**

#### **ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ОЛІЇ СОРТІВ ЛЬОНУ РІЗНИХ НАПРЯМІВ ВИКОРИСТАННЯ**

ННЦ «Інститут землеробства НААН»

вул. Машинобудівників, 2б, смт Чабани, 08162, Києво-Святошинський район, Україна

za-ika@ukr.net

**Zaika Ye.V., Drozd O.M., Kondratiuk V.V.** FATTY ACID CONTENT OF FLAX VARIETIES OF DIFFERENT TYPES OF USE. Thesis is dedicated to researching of oil fatty acid content of flax varieties of NSC "Institute of Agriculture NAAS" breeding. The GC analysis showed the difference in fatty acid content in genotypes. All varieties have high content of linolenic acid and belonged to universal types of varieties. Some of genotypes have higher content of palmitic, stearic, oleic linoleic and linolenic fatty acids than other. These genotypes are perspective as components for breeding.

Льон (*Linum usitatissimum*) має важливе господарське значення як джерело високоякісних луб'яних волокон і цінної олії. Останніми роками зростає увага до насіння й олії льону як харчового продукту функціонального призначення, що пов'язано з високим вмістом поліненасиченої α-ліноленової кислоти ω-3 (Lemesh, 2017). Насіння льону також містить пальмітинову (C16:0), стеаринову (C18:0), олеїнову (C18:1), лінолеву (C18:2) та ліноленову (C18:3) жирні кислоти. Завдяки наявності цих жирних кислот, льонова олія має широкий спектр використання в олеохімічній, фармацевтичній, косметичній і харчовій галузях. Оскільки останнім часом льон олійний є перспективним джерелом ω-кислот, то створення генотипів, які відповідають вимогам сучасного виробництва та мають високу олійність і необхідний жирнокислотний склад олії, є актуальним.

Мета нашої роботи - скринінг місцевих адаптованих сортів льону олійного, довгунця та межеумка селекції ННЦ «Інститут землеробства НААН» за жирнокислотним складом. Дослідження відмінностей у жирнокислотному складі генотипів льону різних напрямів використання, ймовірно, може допомогти у плануванні та підборі батьківських компонентів для схрещувань.

Матеріалом дослідження були 8 сортів льону селекції ННЦ «Інститут землеробства НААН»: льону олійного Блакитно-Помаранчевий, Аквамарин, Північна Зірка, Симпатик, Оригінал, Еврика; льону-довгунця Іванівський, льону-межеумка Універсал.

Аналіз проводили на газовому хроматографі Agilent 7820A GS System з полуменево-іонізаційним детектором (ПД), оснащеному колонкою DB-FFAP 30м, 0,32мм×0,25мм. Метиллові ефіри жирних кислот отримували методом переетерифікації.

За результатами газохроматографічного аналізу найвищий вміст пальмітинової кислоти був у сортів льону олійного Аквамарин (6,47 %) та Еврика (6,29 %), тоді як середній вміст цієї кислоти серед зразків становив 5,72 %.

Найвищий вміст стеаринової кислоти серед досліджуваних генотипів був у сортів олійного льону Еврика (4,80 %) та Північна Зірка (4,50 %). Середній вміст стеаринової кислоти серед зразків був 4,01 %. За вмістом олеїнової кислоти варто виділити сорт льону-довгунця Іванівський (20,2 %), тоді як середній вміст цієї кислоти був на рівні 17,79 %.

Високий вміст лінолевої кислоти був у сорту льону-довгунця Іванівський (16,96 %), льону олійного Оригінал (16,02 %). Середній вміст лінолевої кислоти у вибірці сортів був 14,81 %. Виявлено високий вміст ліноленової кислоти

серед досліджуваних зразків льону – 57,33 %. Найвищий вміст лінолевої кислоти був у сорту льону-межеумка Універсал (59,77 %) і сортів льону олійного Блакитно-Помаранчевий (59,19 %), Північна Зірка (58,57 %).

Отримані дані підтвердили гіпотезу, що всі сорти ННЦ «Інститут землеробства НААН» за напрямом використання належать до високоліноленових і є універсального напрямку використання. Виділено джерела високого вмісту окремих жирних кислот, що можуть бути використані у селекції.

**Івато О.<sup>1</sup>, Фінюк Н.<sup>1,2</sup>, Кришишин-Дилевич А.<sup>3</sup>, Лесик Р.<sup>3</sup>, Стойка Р.<sup>1,2,3</sup>, Боднар Л.<sup>1</sup>**

АНТИНЕОПЛАСТИЧНА ДІЯ *IN VITRO* ПОХІДНИХ 3-(5-ІЛІДЕН-4-ОКСО-2-ТІОКСО-ТІАЗОЛІДИН-3-ІЛ)-ПІРОЛІДИН-2,5-ДІОНУ ЩОДО ПУХЛИННИХ І НОРМАЛЬНИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

<sup>3</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна

oksana.ivatoo@gmail.com

**Ivaty O., Finiuk N., Kryshchshyn-Dylevych A., Lesyk R., Stoika R., Bodnar L.** ANTINEOPLASTIC ACTION *IN VITRO* OF 3-(5-YLIDENE-4-OXO-2-THIOXO-THIAZOLIDIN-3-YL)-PYRROLIDINE-2,5-DIONE DERIVATIVES TOWARDS TUMOR AND NORMAL CELLS. A search for new anticancer drugs is an important problem in biology and medicine. Three derivatives (Les-6287, Les-6294, and Les-6295) were investigated regarding their antineoplastic action of towards human T-cell leukemia cells of Jurkat line, human lung carcinoma cells of A549 line, human breast carcinoma cells of MCF-7 and MDA231 lines, human cervical carcinoma cells of KB3-1 line, human ovarian carcinoma cells of Skov3 line, and human colon carcinoma cells of HCT116 p53<sup>-/-</sup> subline with a deletion of P53 gene, as well as towards normal T-lymphocytes from human peripheral blood. The Les-6287 and Les-6294 demonstrated higher toxicity towards studied tumor cell lines in comparison with such action of Les-6295. Leukemia cells were the most sensitive to the cytotoxic action of Les-6287, Les-6294 and Les-6295, while normal human T-lymphocytes were relatively resistant to studied compounds comparing with the action of doxorubicin.

Кожного року фармацевтична промисловість створює тисячі сполук із потенційною протипухлинною активністю, та лише кілька речовин проходять усі етапи доклінічних і клінічних досліджень із подальшим впровадженням у медичну практику. Тому пошук нових препаратів зі селективною протипухлинною дією є актуальним завданням біології і медицини.

Мета нашої роботи - дослідити антинеопластичну дію нових синтетичних похідних 4-тіазолідиноу Les-6287, Les-6294 та Les-6295. Дослідження цитотоксичності речовин проведено на пухлинних клітинах різного тканинного походження (клітини Т-лейкозу лінії Jurkat, лінії A549 карциноми легень, ліній MCF-7 і MDA231 карциноми молочної залози, лінії KB3-1 карциноми шийки матки, лінії Skov3 карциноми яєчників, сублінії HCT116 p53<sup>-/-</sup> карциноми товстої кишки із делецією гена P53) за допомогою МТТ-тесту і тесту на живі клітини з фарбуванням трипановим синім. Для порівняння використовували Т-лімфоцити, отримані з периферичної крові.

З'ясовано, що Les-6287 та Les-6294 мають більш виражену протипухлинну активність, ніж речовина Les-6295. Les-6287 має виражену цитотоксичну дію щодо клітин ліній Jurkat, MCF-7, HCT116 p53<sup>-/-</sup>, MDA231, A549, KB3-1 з показником цитотоксичності (IC<sub>50</sub>) в межах 1,3-8,0 мкМ. Клітини лінії Skov3 карциноми яєчників були нечутливі до дії Les-6287 (IC<sub>50</sub> > 100 мкМ). Цитотоксичність Les-6294 знижувалася в порядку: Jurkat > HCT116 p53<sup>-/-</sup> > MDA231 > MCF-7 > A549 > Skov3 > KB3-1. Les-6295 виявив найбільш виражену цитотоксичну дію щодо клітин сублінії HCT116 p53<sup>-/-</sup> (IC<sub>50</sub> = 9,6 мкМ). Інші досліджувані пухлинні клітинні лінії були малочутливими до дії Les-6295, оскільки IC<sub>50</sub> > 50 мкМ (для Jurkat, MCF-7, MDA231) або > 100 мкМ (для A549, KB3-1, Skov3). Синтезовані сполуки мають слабшу токсичну дію щодо нормальних Т-лімфоцитів, ніж доксорубіцин. Якщо для доксорубіцину IC<sub>50</sub> становить 5,4 мкМ, то для Les-6294 – 7,2 мкМ, Les-6287 – 75,2 мкМ, а для Les-6295 > 100 мкМ.

Отже, сполука Les-6287 має більш виражену протипухлинну дію порівняно з Les-6294 і Les-6295. Лейкозні клітини найбільш чутливі до дії досліджуваних сполук. Із урахуванням нижчої токсичності цих сполук щодо нормальних Т-лімфоцитів, ніж доксорубіцину, доцільним є поглиблено досліджувати механізми дії даних сполук *in vitro* та *in vivo*.

**Карачковська А., Сирватка В., Громико О., Федоренко В.**

АНТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ КОМПЛЕКСІВ АНТИБІОТИКІВ  
ІЗ НАНОЧАСТИНКАМИ СРІБЛА

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

akarachkovska@gmail.com

**Karachkovska A., Syrvatka V., Gromyko O., Fedorenko V.** ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF ANTIBIOTIC COMPLEXES WITH SILVER NANOPARTICLES. The idea of the work was to combine and mutually increase

the effectiveness of antibiotics and argentum nanoparticles on different pathogenic strains of microorganisms. The antibacterial activity of obtained complexes was discovered by the methods of minimal inhibitory and bactericidal concentration.

Перспективним напрямом сучасної нано- і біотехнології є створення та використання нанорозмірних частинок різних матеріалів. Найкращу антибактеріальну та бактерицидну дію виявляють наночастинки розміром від 9 до 15 нм через значне збільшення площі поверхні частинок, а відтак, і площі контакту з бактерійними чи грибовими клітинами. На відміну від швидкого поширення стійкості до антибіотиків серед бактерій, тільки поодинокі штами мікроорганізмів мають резистентність до наночастинок металів, що створює передумови для їхнього використання в медичній практиці. Серед найрізноманітніших нанопродуктів найефективнішими проти патогенних мікроорганізмів є наночастинки аргентуму (AgNPs), що вже знайшли своє застосування в різних галузях науки та повсякденному житті людей.

Мета роботи - вивчення антибактеріальних властивостей комплексів наночастинок аргентуму (AgNPs) з різними антибіотиками: ампіцилін (AMP), цефазолін (CFL), цефотоксим (CFM), цефтриаксон (CFR), цефуросим (CFX), новобіоцин (NOV), ристоміцин (RIS), тейкопланін (TEI) і ванкоміцин (VNC). За допомогою визначення мінімальної інгібуєчої (МІК) і бактерицидної (МБК) концентрацій встановлено антибактеріальні властивості синтезованих комплексів щодо таких штамів мікроорганізмів: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Candida albicans* ATCC 885-653, *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 та *Klebsiella pneumonia* ATCC. Як контроль використовували розчини антибіотиків у тих самих концентраціях без наночастинок срібла.

У результаті проведених досліджень методом хімічного відновлення було отримано стабільні комплекси AgNPs із усіма переліченими вище антибіотиками. Концентрація наночастинок у вихідному розчині становила 55 мМ, а концентрація антибіотиків – 10 мМ (VAN і TEI – 1 мМ). Наночастинки були сферичної форми, розміром 10-12 нм. Виявлено, що синтезовані наночастинки аргентуму виявляють вищу бактерицидну активність щодо патогенних штамів бактерій порівняно з дріжджами. Мінімальна бактерицидна концентрація для *E. coli* з AgNPs-CFM становила 1 мМ розчину наночастинок, а за додавання 25 мМ наночастинок не виявлено інгібування росту *C. albicans*.

Усі синтезовані комплекси виявляли вищу бактерицидну активність щодо всіх досліджуваних штамів мікроорганізмів порівняно з контролем. Отримані комплекси можуть покращувати антибактеріальні властивості антибіотиків і стати інструментом у вивченні ймовірної стійкості до них.

#### **Князєва К., Петріна Р.**

#### **ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ *ARNICA MONTANA* ТА *CALENDULA OFFICINALIS* НА ВМІСТ АМІНОКИСЛОТ**

Національний університет «Львівська політехніка»  
вул. Ст.Бандери, 12, м.Львів, 79013, Україна  
Kateryna.Kniazieva.BT.2017@lpnu.ua

**Kniazieva K., Petrina R. RESEARCH OF PLANT EXTRACTS FOR AMINO ACIDS CONTENT.** The callus biomass of plants was obtained. Extracts of callus biomass and plants were extracted. The obtained biomass was studied for amino acids content. Detected amino acids using analytical reactions, thin layer chromatography (TLC), spectrometry method. Fifteen amino acids in each extract were identified.

Рослини у процесі життєдіяльності продукують метаболіти, які умовно поділяють на первинні, які необхідні організмові для росту й розвитку (наприклад, амінокислоти, білки, органічні кислоти, ліпіди, нуклеотиди), і вторинні (флавоноїди, терпеноїди, алкалоїди тощо). Метаболіти рослин впливають на їхні біологічні властивості - антимікробні, антиоксидантні, протиракові, знеболювальні, протизапальні, ранозагоювальні тощо.

Ідентифікація метаболітів, що мають біологічну активність, цікава для вивчення взаємозв'язку *структура - активність*. Для загального фотохімічного скринінг-аналізу використовують сучасні методи: рідинну та газову хроматографію, мас-спектрометрію. Ідентифікувати амінокислоти (АК) в екстрактах можна за допомогою тонкошарової хроматографії (ТШХ), оскільки цей метод має низку переваг: треба небагато часу, можна одночасно проаналізувати кілька зразків і можна використовувати мобільні фазові системи елюентів.

У літературі описано вміст АК в екстрактах *A. montana* та *C. officinalis*, але інформації про дослідження метаболітів у калусних біомасах (КБ) цих рослин немає. Тому актуальним є дослідження вмісту АК у КБ рослин для використання її як альтернативної рослинної сировини з метою отримання гігієнічних, косметичних, фармацевтичних і харчових засобів. Така біомаса є екологічно чистою, її можна отримувати незалежно від пори року й умов довкілля і з регульованим вмістом метаболітів.

Мета досліджень - одержати екстракти рослин і екстракти КБ *A. montana* та *C. officinalis*, визначити амінокислотний склад екстрактів за допомогою якісних реакцій, методу ТШХ та спектрофотометрії, а також порівняти отримані результати вмісту АК в екстрактах рослинної сировини та калусної біомаси.

КБ рослин одержано згідно з відпрацьованими методиками на середовищі Мурасиге-Скуга із вмістом індолілоцтової кислоти – 2,0 мг/л, нафтілоцтової кислоти – 0,1 мг/л і кінетину – 0,5 мг/л, за температури 23 °С,

фотоперіоду 18/6 (світло/темрява), освітлення 2000 лк. Етанольні екстракти КБ і рослинної сировини *A. montana* та *C. officinalis* одержано методом настоювання у 70%-ному етанолі зі співвідношенням біомаса : екстрагент – 1 : 10 за кімнатної температури протягом 7 діб.

Одержано 4 досліджуваних екстракти, які відфільтровано крізь складчастий фільтр та ідентифіковано на вміст АК.

Використано кольорові якісні реакції - ксантопротеїнову, нінгідрінову, реакцію Паулі, з реактивом Неслера. Усі досліджені екстракти дали позитивний результат. Для ТШХ як елюент використано суміш н-бутанол : льодяна оцтова кислота : дистильована вода – 7 : 1,5 : 3,5, проявник – 0,1%-ний розчин нінгідрину в ацетоні. Ідентифікацію амінокислот здійснено візуально та за  $R_f$ . Проведено спектрофотометрію водних розчинів АК і рослинних екстрактів, одержано результати в УФ-ділянці в діапазоні 200-400 нм.

Отже, одержано екстракти КБ та рослинної сировини і за допомогою фізико-хімічних методів досліджено їх на вміст АК. Ідентифіковано в кожному з екстрактів по 15 АК. Встановлено, що екстракти КБ *A. montana* та *C. officinalis* містять ті ж АК, що й екстракти рослинної сировини. Тому одержання КБ рослин є альтернативним методом одержання АК для потреб фармації, косметології та харчової промисловості.

**Кравчик Г., Голуб Н.**

### ВПЛИВ ТАУРИНУ НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ І РУХОВУ АКТИВНІСТЬ У ДИСТРОФІНОВИХ МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
galia5588com@gmail.com

**Kravchuk H., Holub N.** THE INFLUENCE OF TAURINE ON LIFE SPAN AND MOVING ACTIVITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* DYSTROPHY MUTANTS. The influence of 0,1 % taurine on life span and moving activity of *Drosophila melanogaster* dystrophy mutants *DysDf//TM6, Tb* with deleted the dystrophin gene was analyzed. The results indicate an increasing of average life span on 5-29 % and indexes of moving activity in 1.8-5.1 times after taurine treating After further studies on vertebrates taurine may be recommended as a therapeutic agent in the treatment of Duchenne muscular dystrophy.

М'язова дистрофія Дюшена – спадкове захворювання, зумовлене мутаціями в гені дистрофіну, що міститься в Х-хромосомі. Дистрофін – складова дистрофін-глікопротеїнового комплексу, що бере участь у передачі сигналу з позаклітинного матриксу до актинового цитоскелету і стабілізації сарколеми під час скорочення м'язів. Відсутність дистрофіну призводить до дегенерації й ослаблення скелетних м'язів, що з часом призводить до смерті хворого. Лікування цього захворювання нині відбувається гормонально (що має певні побічні ефекти) або за допомогою методів високоартісної генної терапії. Тому пошук дешевих ефективних ліків – актуальний напрям досліджень. Особлива увага приділяється лікарським препаратам - антиоксидантам. Таурин – це сірковмісна амінокислота, яка має антиоксидантну, імуномодуляторну, сечогінну дію, гальмує підвищення концентрації холестерину в крові. Введення таурину покращує функції скелетних м'язів.

Мета нашої роботи - проаналізувати вплив 0,1 % таурину на тривалість життя і рухову активність дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster*. Затравку проводили відразу ж після вильоту імаго.

Матеріалом досліджень слугувала лабораторна лінія *Drosophila melanogaster DysDf//Tm6, Tb*. Вона містить делецію, що цілком охоплює ген дистрофіну *Dys*. Ці «справжні» делеційні мутанти за фенотиповим проявом близькі до м'язової дистрофії Дюшена людини.

Нами побудовано криві виживання, проаналізовано показники середньої (СТЖ) і максимальної (МТЖ) тривалості життя контрольних і затравлених 0,1 % таурином імаго.

Показники СТЖ у необробленої контрольної лінії мутантів *Dys, Df/TM6, Tb* були такі:  $S_{75}$  – 24 дні,  $S_{50}$  – 45 днів і  $S_{25}$  – 55 днів. МТЖ становила 61 день. Плато (ознака нормального старіння дрозофіли) не було. Після вживання таурину показники СТЖ були такі:  $S_{75}$  – 31 день,  $S_{50}$  – 48 днів і  $S_{25}$  – 58 днів. Максимальна тривалість життя становила 62 дні. Отже, таурин приводив до статистично достовірного підвищення показників середньої тривалості життя, проте плато не відновлював.

Також нами визначено індекс рухової активності (ІРА) оброблених і необроблених імаго *Dys Df/TM6, Tb* на 1-3-й, 4-6-й, 7-9-й і 10-12-й дні життя імаго. У контрольній лінії *Dys Df//Tm6, Tb* 1-3-денного віку ІРА становив 0,14, у 4-6-денних – 0,64, у 7-9-денних – 0,61, у 10-12-денних – 0,16. Згодовування 0,1 % таурину приводило до статистично достовірного зростання даного показника. Так, у 4-6-денних імаго він збільшувався до 1,22, у 7-9-денних – до 1,15, у 10-12-денних – до 0,81.

Таким чином, згодовування 0,1 % таурину приводить до збільшення показників СТЖ на 5–29 % та ІРА в 1,8–5,1 разу. Після подальших досліджень на хребетних тваринах таурин може бути рекомендований як терапевтичний препарат у лікуванні м'язової дистрофії Дюшена.

**Левандівська С., Осташ І.**

ВПЛИВ ГЕНІВ *LANJ* І *LANK* ТА ЇХНІХ ПАРАЛОГІВ НА СИНТЕЗ І ТРАНСПОРТУВАННЯ  
ЛАНДОМІЦИНІВ У *STREPTOMYCES CYANOGENUS*

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
sonyalev999@gmail.com

**Levandivska S., Ostash I.** THE INFLUENCE OF *LANJ* AND *LANK* GENES AND THEIR PARALOGS ON THE SYNTHESIS AND TRANSPORT OF LANDOMYCINS IN *STREPTOMYCES CYANOGENUS*. In this study we focused on the level of landomycins synthesis and their export from cells in different strains of *Streptomyces cyanogenus*. Here we found genes *s136\_3375* and *s136\_3376* outside the landomycin biosynthetic gene cluster, which encode proton-dependent transporter and its repressor, respectively. The genes are paralogues of the *lanJ* and *lanK* genes and probably are involved in the landomycins transport. We examined the effect of single and double deletions of transporter genes and overexpression of repressor gene *s136\_3376* on the synthesis of landomycins and the efficiency of their efflux. We observed a significant difference in the landomycins biosynthesis level in these strains. Further studies will provide a better understanding of mechanism of landomycins resistance in *Streptomyces cyanogenus*, in particular the influence of different genes involved in export.

Ландоміцин А (LaA) є основним вторинним метаболітом у *Streptomyces cyanogenus* S136. Ця сполука належить до родини ангуциклінових антибіотиків і характеризується високою цитотоксичністю. Ландоміцин А здатний впливати на ракові клітини, що є стійкими до інших антибіотиків.

Це наводить на думку, що ландоміцини можуть слугувати молекулярними пробами для ідентифікації раніше не відомих мішеней хіміотерапії. Механізми стійкості продуцентів до цих сполук достеменно невідомі і потребують детальних досліджень.

У геномі S136 кластер генів синтезу ландоміцину А (*lan*-кластер) містить ген *lanJ*, що кодує протон-залежний транспортер, задіяний у експорті ландоміцинів. За межами кластеру знайдено паралог цього гена – ген *s136\_3375*, продукт якого, ймовірно, виконує аналогічну до *lanJ* функцію. Попередньо сконструйовано 3 штами: *S. cyanogenus* J39 (делеція *lanJ*), *S. cyanogenus* Δ3375 (делеція *s136\_3375*) та *S. cyanogenus* Δ2 (делеція обидвох генів). Наше завдання полягало в кількісному аналізі синтезу LaA залежно від наявності генів транспортерів. Виявлено достовірне зниження синтезу цієї сполуки у штамі Δ2 порівняно з диким типом. Проте синтез LaA не припиняється, і це дає підстави припускати можливість впливу інших, ще не знайдених генів транспортерів чи іншого механізму захисту.

Експресія гена *lanJ* регулюється сусіднім геном *lanK*, продуктом якого є репресор родини TetR. Поруч із геном *s136\_3375* також виявлено ген, що кодує білок родини TetR - *s136\_3376*. Для перевірки впливу цього гена на експресію генів транспортерів і синтез ландоміцинів ми сконструювали два штами з надекспресією *s136\_3376*: S136(pUNK1) та Δ2(pUNK1). Виявлено зниження синтезу ландоміцинів у обох штамів із надекспресією гена *s136\_3376*, порівняно з їхніми вихідними штамми. Враховуючи відсутність двох генів транспортерів у штамі Δ2(pUNK1), припускаємо, що *s136\_3376* впливає на невідомий ген транспортера у геномі.

Ми провели низку екстракцій ландоміцинів із біомаси та культуральної рідини штамів S136, J39, Δ3375, Δ2, S136(pUNK1) і Δ2(pUNK1) для кількісної оцінки ролі генів транспортерів і їхнього ймовірного репресора в експорті ландоміцинів із клітин.

**Лехнюк Н.<sup>1</sup>, Тимченко Ю.<sup>2</sup>, Боднар Л.<sup>1</sup>**

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНОТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ВОДНОГО РОЗЧИНУ  
НАНОРОЗМІРНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ НА МЕРИСТЕМУ КОРІНЦІВ *ALLIUM CEPA*  
ТА ЕМБРІОГЕНЕЗ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

<sup>1</sup> Львівський національний університет ім. І. Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup> Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
Майдан Свободи, 6, м. Харків, 61077, Україна  
e-mail: nadiya.lekhniuk@lnu.edu.ua

**Lekhniuk N., Timchenko Y., Bodnar L.** GENOTOXICAL EFFECT OF ULTRA-SMALL CERIA DIOXIDE NANOPARTICLES ON *ALLIUM CEPA* ROOTS AND *DROSOPHILA MELANOGASTER* EMBRYOGENESIS. This study aimed to examine and compare the genotoxic influence of 0.1M water solutions of ultra-small negatively charged citrate-stabilized CeO<sub>2</sub> nanoparticles (size ~1,5 nm) by two test systems: Allium test and induction of dominant lethal mutations (DLM) in *Drosophila melanogaster* embryogenesis. The results have shown low-level toxicity, but it was still present. In the Allium test, the deviation from control was 1.04 %, and in the DLM test, the deviation was about 3 %.

Нанорозмірний діоксид церію (НДЦ, наноцерій) є новітнім і багатообіцяючим матеріалом для біомедицини завдяки його унікальним хімічним та фізичним властивостям. Показано, що для НДЦ властиві виражені антибактерійні, протівірусні, антиоксидантні, протипухлинні й УФ-рефлекторні дії, що передбачають

обширні можливості до застосування НДЦ у різних сферах. Незважаючи на зростання кількості наукових робіт, присвячених наноцерію, генотоксичність НДЦ все ще лишається маловивченою через варіабельність методів його синтезу, в результаті яких утворюються частинки різних розмірів і форм. Мета даної роботи - дослідити генотоксичність особливо малих (1-2 нм у діаметрі) негативно заряджених цитрат-стабілізованих частинок наноцерію, що були представлені у вигляді 0,1 М водного розчину.

Дослідження проводили з використанням двох тестів. Allium тест полягав у оцінці частоти появи хромосомних аберацій у меристематичних клітинах корінців *Allium cepa*. Цибулини з пророслими до довжини 2,5-3,5 см корінцями витримували у розчинах НДЦ протягом 6 год у темряві, після чого фіксували розчином етанолу і льодяної оцтової кислоти (фіксатор Кларка). Як негативний контроль використовували дистильовану воду. На тимчасових препаратах, забарвлених ацетоорсеїном, оцінювали наявність таких хромосомних аберацій: формування хроматидних і хромосомних мостів, утворення фрагментів хромосом, вихід хромосом за межі веретена поділу та загальні порушення роботи веретена поділу. На кожному препараті аналізували близько 100 анателофаз. Для перевірки впливу розчинів на ембріогенез *Drosophila melanogaster* (Oregon-R) використовували метод індукції домінуючих летальних мутацій (ДЛМ). Досліджуваний розчин вносили у середовище, на якому вирощували піддослідних самців. Негативним контролем було стандартне поживне середовище без модифікацій, з такого ж відбирали піддослідних самок. Аналіз потомства проводили за такими критеріями: кількість нормальних яєць, кількість незапліднених яєць, кількість яєць із ранньою ембріональною загибеллю і кількість яєць із пізньою ембріональною загибеллю. Для обох тестів позитивним контролем слугували 0,1 М водні розчини  $CeCl_3 \cdot 7H_2O$  та  $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$ .

Результати роботи показали, що для досліджуваних частинок НДЦ рівень генотоксичності низький, проте все ж наявний. Дані Allium тесту показали відхилення рівня виникнення хромосомних аномалій від контролю на 1,04 %. Найтипніше порушення - вихід хромосом за межі веретена поділу (понад 65 % усіх аномалій), також спостерігали загальні порушення роботи веретена поділу й утворення хроматидного моста. Аналіз здатності розчину наночастинок індукувати ДЛМ показав, що відхилення від рівня контролю становить 3,11 %. Найчастіше спостерігали появу незапліднених яєць (50 % кількості всіх ДЛМ), найрідше ж – яйця з пізньою ембріональною загибеллю (13,6 % кількості всіх ДЛМ).

**Ляшук І., Тарговський Б., Галенова Т., Савчук О.**

**ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ ДЛЯ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО ОТРИМАННЯ КОЛАГЕНОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ ІЗ ШКІРНОГО СЕКРЕТУ *BOMBINA VARIEGATA***

ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна  
ivanka.liashuk123@gmail.com

**Liashuk I., Tarhovskiy B., Halenova T., Savchuk O.** THE OPTMIZATION OF CHROMATOGRAPHIC CONDITIONS FOR PURIFICATION OF COLLAGENOLYTIC ENZYME FROM THE SKIN SECRETION OF *BOMBINA VARIEGATA*. This research aimed to purify the proteolytic proteins present in *B. variegata* skin secretions, which have collagenolytic activity. In the result of ion-exchange chromatography on DEAE-Sephadex we collect a protein fraction, where three proteolytic enzymes were identified. The obtained results indicate the presence of proteolytic enzymes that may have a therapeutic effect and therefore require additional study.

Секрети залозистих клітин шкірних покривів амфібій є комплексним джерелом великої кількості біологічно активних речовин. Протеолітичні властивості окремих компонентів шкірних секретів можуть бути широко застосовані в промисловості й медицині, що робить актуальним пошук методів швидкого скринінгу та розробку підходів очищення цільових молекул із вираженою ферментативною активністю. Мета даної роботи - підібрати оптимальні умови фракціонування загального шкірного секрету *Bombina variegata* для ефективного виділення колагенолітичних ферментів.

У роботі використовували ліофільно-висушений секрет шкірних залоз *B. variegata*. Сухий матеріал розчиняли у буфері, що містив 20 мМ Tris і 0,36 мМ  $CaCl_2$  (буфер А), з розрахунку 25 мг/мл. Нерозчинні компоненти осаджували центрифугуванням за 3000 g протягом 10 хв. Отриманий супернатант наносили на колонку ДЕАЕ-сефарози, попередньо врівноважену буфером А. Швидкість потоку - 2 мл/хв. Для підбору оптимального значення рН робочого буфера для розділення секрету ми випробували три варіанти: рН 8, 9 та 10. Елюцію білків здійснювали ступінчастим градієнтом (із кроком у 5 %) буфера аналогічного складу із вмістом 1 М NaCl. Фракції збирали по піках, які тестували на присутність протеолітичних ферментів за допомогою методу ензим-електрофорезу з використанням колагену як субстрату.

Отримані результати показали наявність у загальному секреті шкірних залоз *B. variegata* кількох активних ензимів, що мали виражену колагенолітичну дію. Дослідження з підбору оптимального водневого показника робочого буфера показало, що буфер А зі значенням рН 10 є оптимальним для здійснення фракціонування даних ензимів. Результати ензим-форезу довели, що максимальний вихід колагенолітичних ферментів відбувався за 15 %-ного градієнта буфера Б, тому кількість сходинок була зменшена до трьох – 10, 15 і 100 % буфера Б, що дало змогу скоротити час, необхідний для фракціонування. Однак за таких умов відмічали появу світлих зон на

ензимограмі не лише у треку, що відповідав цільовому піку (15 %), але й частково у треку, що відповідав білкам, які були елюйовані 100 % буфером Б. З метою зменшення потенційних втрат цільових білків було підвищено відсоток буфера Б в межах другої сходинки з 15 до 18 %, що дало змогу більш ефективно сконцентрувати активні ензими в межах одного піку. Оскільки показано, що отримані ензими мали різну молекулярну масу, то доцільно провести подальше розділення цільових молекул методом хроматографії, який поділяє за розміром.

Отже, результати проведених досліджень дають змогу запропонувати ефективну та швидку схему першого етапу хроматографічного розділення загального шкірного секрету *B. variegata* з метою отримання активних ферментів із колагенолітичною дією.

Маємо на меті подальший пошук підходів фракціонування отриманої суміші ензимів на окремі компоненти і встановлення основних кінетичних характеристик отриманих ферментів.

#### **Мельник С., Остап Б.**

### КЛАСТЕР-СПЕЦИФІЧНІ РЕГУЛЯТОРНІ ЕЛЕМЕНТИ, ЩО ЗАДІЯНІ У ПРОДУКЦІЇ ХЛОРОБІОЦИНУ ШТАМОМ *STREPTOMYCES ROSEOCHROMOGENES* NRRL 3504

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
sofiamelnyk@gmail.com

**Melnyk S., Ostash B.** CLUSTER-SPECIFIC REGULATORY ELEMENTS INVOLVED IN THE PRODUCTION OF CLOROBIOCIN BY *STREPTOMYCES ROSEOCHROMOGENES* NRRL 3504. In current work we have investigated the influence of the expression gene for cluster-specific regulator *novG* on biosynthesis of clorobiocin in natural producer *S. roseochromogenes* NRRL3504. We revealed that *novG* expressed under different promoters from integrative actinophage  $\phi$ C31-based vectors led to a decreased production of clorobiocin as compared to the wild type strain.

Для бактерій роду *Streptomyces*, зокрема, для досліджуваного нами штаму *S. roseochromogenes* NRRL 3504 – продуцента амінокумаринового антибіотика хлоробіоцину – характерна ієрархічна регуляція синтезу вторинних метаболітів. Кластери генів біосинтезу антибіотиків містять гени, що кодують білки з регуляторними функціями – кластер-специфічні регулятори, які впливають на синтез конкретного антибіотика. Вершину регуляторного каскаду займають плейотропні регулятори, що розташовані поза кластерами генів біосинтезу і контролюють продукцію значної кількості сполук, а також процеси морфогенезу. Кластер генів біосинтезу хлоробіоцину містить ген *cloG*, що кодує позитивний шлях-специфічний регулятор продукції даного амінокумарину. Ортологом гена *cloG* у продуцента новобіоцину *S. spheroides* є ген *novG*, надекспресія якого приводить до збільшення продукції цього антибіотика у кілька разів. У попередніх дослідженнях нами сконструйовано ряд штамів, що експресують додаткові копії генів плейотропного транскрипційного регулятора *AdpA*. Доведено, що рівень антибіотичної активності деяких рекомбінантних штамів (SM1, SM3), які експресують ген *adpA* *S. ghanaensis* ATCC14672, є вищим, ніж у вихідного штаму.

Мета цієї роботи – дослідити вплив кластер-специфічного регуляторного гена *novG* на рівень продукції хлоробіоцину штамми *S. roseochromogenes*.

Нами сконструйовано низку штамів з надекспресією гена *novG*. Ген *novG* клонували у вектори *pmoeE5script*, *pTES*, *pGSumRP21* з розрахунком, щоб цей ген потрапив під контроль промоторів *moeE5p*, *ermE5p*, *P21-cmt*, відповідно. Таким чином сконструювали плазміди *pNOVG101*, *pNOVG102*, *pNOVG103*. Методом міжродової кон'югації у системі *Streptomyces-E. coli* сконструйовані плазміди перенесли з F+ штаму *E. coli* ET12567 у штам *S. roseochromogenes*. Ми порівняли антибіотичну активність штаму дикого типу та *novG+* транскон'югантів методом агарових блоків (тест-культури - *Bacillus cereus* і *S. albus*). Результати тесту свідчать про те, що рівень антибіотичної активності рекомбінантних клонів, які містять додаткові копії гена *novG* *S. spheroides* 2449, є нижчим, ніж у вихідного штаму. Отже, ймовірно, введення додаткових копій гена шлях-специфічного регулятора *novG* у складі інтегративних векторних систем інгібує синтез хлоробіоцину штамми *S. roseochromogenes*.

#### **Новосядла З., Прокопчук Ю.**

### ВПЛИВ СПЕРМІДИНУ НА РУХОВУ АКТИВНІСТЬ МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ГЕНАМИ *SOD<sup>1</sup>* ТА *SWS<sup>1</sup>*

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
zoriana76@gmail.com

**Novosiadla Z., Prokopchuk J.** THE EFFECT OF SPERMIDINE ON LOCOMOTOR ACTIVITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER SOD<sup>1</sup>* AND *SWS<sup>1</sup>* - MUTANTS. The effect of spermidine on the locomotor activity of *Sod<sup>1</sup>* and *sws<sup>1</sup>* mutants of *D. melanogaster* was investigated: a decrease in the locomotor activity index to control levels in *Sod<sup>1</sup>* - mutants under action of spermidine and no effect on *sws<sup>1</sup>* - mutants were detected.

Нині ефективне лікування нервово-дегенеративних розладів лишається невирішеною проблемою. В усьому світі спостерігається постійна тенденція до збільшення кількості осіб, які страждають від таких захворювань

(Sosa-Ortiz, 2012). *Drosophila melanogaster* є хорошою тест-системою для вивчення нейродегенеративних захворювань. Однією з мутацій дослідження розвитку нейродегенерації є мутація гена *swiss cheese* (*sws*), яка зумовлює апоптоз нейронів і гіперобгогортання їхньої соми гліальними клітинами (Kretzschmar, 1997). Пусковим ферментом антиоксидантної системи захисту організму є супероксиддисмутаза (СОД), яка відіграє важливу роль у внутрішньоклітинному захисті від активних форм кисню. У дрозофіли, як і у людини, є кілька ізоформ цього ферменту:  $\text{Cu}^{2+}\text{-Zn}^{2+}$  СОД (кодується геном *Sod<sup>1</sup>*, який локалізується в районі 68A7 у 3-й хромосомі у дрозофіли) (Allen, 2012).

Відомо, що мутанти за геном *Sod<sup>1</sup>* мають підвищену чутливість до оксидативного стресу, вкорочену тривалість життя і дегенерацію тканини мозку (Вітушинська, 2015).

Спермідин – це поліамінова сполука, яка є у всіх еукаріотичних клітинах і бере участь у клітинному метаболізмі. В експериментах на дрозофілі показано, що спермідин здатен підвищувати цитопротекторну аутофагію, уповільнювати процес старіння, знижувати розвиток дегенеративних змін (Madeo, 2018). Однак є дані, які свідчать, що спермідин може виступати в ролі прооксиданта (Маклецова, 2013). Тобто він може впливати на ключові показники життєздатності мух (рухову активність, тривалість життя).

Мета нашого дослідження - з'ясувати вплив спермідину на рухову активність *Sod<sup>1</sup>* і *sws<sup>1</sup>* мутантів. Експерименти проводили лише на самцях. Вплив препарату, внесеного в середовище у певній концентрації, аналізували методом личинкового згодовування. Для визначення індексу рухової активності провели клаймбінг-тест із 13-15-денними самцями дослідних ліній і порівняли ці результати із контролем (самці, яким не згодовували спермідин). Контролем для *Sod<sup>1</sup>*-мутантів були потомки від схрещування *ebony/Oregon R*. Гени *Sod<sup>1</sup>* та *e* локалізовані в третій хромосомі у дрозофіли. Щоб уникнути можливості впливу продуктів гена *e* на експресію гена *Sod<sup>1</sup>*, ми використовували гетерозигот дослідної та контрольної ліній. Для лінії *sws<sup>1</sup>* контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon R*.

За допомогою визначення індексу рухової активності методом клаймбінг-тесту встановлено зниження рухової активності у *Sod<sup>1</sup>*-мутантів до рівня контролю за дії спермідину. Зокрема, індекс рухової активності у *Sod<sup>1</sup>*-мутанті без впливу препарату становив 0,326, тоді як за його дії - 0,133. Таке зниження є достовірним (\*\*\*). Проте на моделі *sws<sup>1</sup>* мутантів ми не спостерігали достовірних змін показника рухової активності (0,029 і 0,042 без препарату і за його дії, відповідно).

### Плигун В.

#### ОСОБЛИВОСТІ ПРОХОДЖЕННЯ МЕЙОЗУ У АМФІДИПЛОЇДІВ ПШЕНИЦІ

Національний університет «Києво-Могилянська академія»  
вул. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна  
v.plyhun@ukma.edu.ua

**Plyhun V. MEIOTIC BEHAVIOUR IN WHEAT AMPHIDIPOIDS.** The study of micro- and macrosporogenesis of wheat and its amphidiploids is important for development of fertile introgression derivatives of common wheat. The processes of male and female sporogenesis and male gametogenesis in wheat cultivars *Nikonia*, *Leleka*, *Aurora* (AABBDD,  $2n=42$ ) and genome substitution amphidiploids *Auroale* (AABBRR,  $2n=42$ ) and *Aurotika* (AABBTT,  $2n=42$ ) were investigated. Meiosis in wheat cultivar plants progresses without abnormalities with formation of 20 closed bivalents mainly. In amphidiploids meiosis abnormalities manifest in appearance of multivalents and univalents in M1, bridge formation in A1 and tetrads with micronuclei generation. In flowers macrosporogenesis passes ahead of microsporogenesis.

Пшениця м'яка є ключовим злаком в Україні і одним із головних – у світі. Її успішне культивування потребує сортів, стійких до шкідників, патогенів, несприятливих умов вирощування (Liu, 2016). Джерелом генів, що забезпечують таку стійкість, є дикорослі родичі пшениці м'якої, а методом їхнього перенесення до генетичного пулу сортів уже понад 50 років є створення лінійного матеріалу з інтрогресіями чужинного хроматину (Zhang, 2017). Успіх такої роботи насамперед залежить від можливості отримати фертильних гібридних нащадків, що залежить від процесів мікро- та макроспорогенезу (Fakhri, 2016).

Процеси мікро- та макроспорогенезу вивчали на геномно-заміщених амфідиплоїдах Авротіка ( $2n = 42$ , геном AABBTT) і Авроале ( $2n = 42$ , геном AABBRR), стійких до грибних захворювань пшениці, та сортів пшениці м'якої Аврора, Лелека і Ніконія.

У мікроспорогенезі сортів Ніконія та Лелека спостерігали 21П (закритий бівалент) у метафазі МКП (материнські клітини пилку), сорту Аврора – бівалентну кон'югацію з 1–2 відкритими бівалентами. У Авротіки в метафазі I спостерігали мультиваленти, що можна пояснити частковою гомологією геномів T і D (Ohta, 1991), і уніваленти, що мають спостерігатися за наявністю тривалентів, а також можуть бути результатом десинапсису в пізній зиготені-ранньому діакінезі профазі I чи асинапсису в пахітені. Уніваленти, наявні у M1 Авроале, мають утворюватися через асинапсис чи десинапсис. Під час анафазу амфідиплоїдів і сортів не було відмінностей. За наявністю унівалентів у M1 амфідиплоїдів в анафазі спостерігали відставання хромосом і їхню елімінацію, що має розглядатись як механізм демінуції хроматину в генераціях амідиплоїдів. Були наявні хромосомні містки між анафазними хромосомами. Їхній розрив, формування та подальша втрата ацентричних фрагментів також мають бути джерелом демінуції хроматину. Другий поділ мейозу відбувався без порушень як у сортів,



так і у амфідиплоїдів. Відставання унівалентів у А1, через яке вони не входили до екваторіальної пластинки, візуалізується на стадії тетрад як наявність у деяких із чотирьох клітин тетради від одного до кількох мікроядер. Наявність тетрад із мікроядрами є характерною рисою мікроспорогенезу вивчених амфідиплоїдів. Крім тетрад, утворювалися тріади.

Спостерігали асинхронність у фазах поділу: один мікроспороцит на стадії анафази, а інший – на стадії метафази. Кожна з клітин тетрад дасть початок пилковому зерну, яке має мати 1 велике вегетативне ядро і 2 генеративних (мікрогаметогенез). Однак спостерігали пилкові зерна з 3 сперміями замість 2 плюс вегетативне ядро. Набагато складнішою частиною дослідження є вивчення макроспорогенезу, пов'язане з унікальністю материнської клітини макроспори (МКМ) – 1 на квітку, тоді як МКП багато, і у пшениці та її гібридів прийнято вивчати лише мікроспорогенез. У ранній профазі МКМ Авротики спостерігали відходження частини хроматину від загальної його маси. Діакінез відбувався без порушень. Під час метафази були наявні уніваленти. На стадії телофази і тетрад порушень не було. Встановлено, що є асинхронність у перебігу мейозу всередині квітки і що мегаспорогенез відбувається раніше, ніж мікроспорогенез, у тій самій квітці.

**Полякова Є.О.<sup>1,2</sup>, Чорна Л.Б.<sup>2</sup>**

#### ЧАСТОТА І СПЕКТР МУТАЦІЙ ГЕНА ФАГ У ХВОРИХ НА ФЕНІЛКЕТОНУРІЮ ІЗ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

вул. Лисенка, 31А, м. Львів, 79000, Україна

elizavetapolyakova1988@gmail.com

**Poliakova Ye.O., Chorna L.B.** FREQUENCY AND SPECTRUM OF PAH OF PAH GENE MUTATIONS AMONG PKU PATIENTS FROM WESTERN REGION OF UKRAINE. Phenylketonuria (PKU) is one of the most common inherited inborn errors of metabolism that impairs postnatal cognitive development. The purpose of our work was to analyze the frequency and spectrum of PAH gene mutations among PKU patients from Western region of Ukraine. Patients with hyperphenylalaninaemia (HPA) were selected during neonatal screening program. The most common mutation in patients with PKU from Western Ukrainian region is R408W. According to the results of sequencing three pathogenic variants of mutations were identified.

Фенілкетонурія (ФКУ) – одне з найпоширеніших спадкових моногенних метаболічних порушень, зумовлених дефектом гена фенілаланінгідроксилази (ФАГ), що успадковуються за аутомно-рецесивним типом.

Описано понад 1000 варіантів гена фенілаланінгідроксилази (ФАГ), що призводить до необоротного ураження мозку, яке клінічно виявляється як сильна розумова відсталість. Поява різних мутантних алелей відрізняється між етнічними групами та географічними регіонами по всьому світу. Мета нашої роботи - проаналізувати частоту і спектр мутацій гена ФАГ у хворих Західного регіону України.

Молекулярно-генетичний аналіз 153 пробандів проведено на основі підвищеного рівня фенілаланіну в крові. Геномна ДНК пацієнтів із ФКУ виділена з лейкоцитів периферичної крові методом висолювання.

Для виявлення мутацій у гені ФАГ використовували метод полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ-ПЛР). Усього виявлено 8 мутацій у 195-ти мутантних алелях гена ФАГ. Мутаційний аналіз виявив, що 64 % всіх варіантів алелей несуть чотири мутації. Найпоширеніша мутація с.1222С> Т (р. R408W) була виявлена у 180 алелях (58,82 %) із дуже високим ступенем гомозиготності (36 %). Мутація р. R408W була представлена на одному або двох алелях у 125 пацієнтів (125/153). Інші 8,09 % становили мутації с.1066-11G> А (3,85 %), с7373> А (2,83 %), с.1241А> G (1,42 %). За допомогою прямого секвенування ДНК виявлено мутації с.722G> А та с.838G> А у компаунд-гетерозиготному стані та рідкісний патогенний варіант с.581Т> С у гомозиготному.

Результати дослідження показали, що найчастішою мутацією у хворих на ФКУ із західноукраїнського регіону є с.1222С> Т. Це становить 59 % мутантних алелей. Додаткове тестування має важливе значення для виявлення решти 36 % алелей.

**Полуйко А., Басовська О., Ракша Н.**

#### ВИЯВЛЕННЯ НЕТИПОВИХ БІЛКОВИХ МОЛЕКУЛ У КРОВОТОЦІ ПАЦІЄНТІВ ІЗ РОЗСІЯНИМ СКЛЕРОЗОМ

Київський національний університет

імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини»

вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна

e-mail: alionap1908@gmail.com

**Poluiko A., Basovska O., Raksha N.** DETECTION OF ATYPICAL PROTEIN MOLECULES IN THE BLOOD-STREAM OF PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS. The study of the fluctuations of antibodies and medium-

sized molecules in the development of multiple sclerosis (MS) is important for the formation of a holistic picture of the disease and the drug development strategy. The aim of our work was to investigate and characterize the presence of immunoglobulins G and medium-sized molecules in the blood plasma of patients with MS.

Розсіяний склероз (РС) є хронічним аутоімунним запальним неврологічним захворюванням центральної нервової системи, яке може розвинути у будь-якому віці, але найчастіше, у тому числі в Україні, цю патологію виявляють у віці від 20 до 40 років. В основі патогенезу розсіяного склерозу лежить аутоімунне руйнування мієліну, через це у хворих підвищується концентрація специфічних антитіл. Для більш пізнього періоду захворювання характерна нейродегенерація, що супроводжується посиленням ендогенної інтоксикації та характеризується зміненим спектром молекул середньої маси (МСМ). Саме тому дослідження коливань антитіл і молекул середньої маси за розвитку розсіяного склерозу має важливе значення для формування цілісної картини виникнення захворювання та стратегії розробки лікарських препаратів.

Мета нашої роботи - дослідити й охарактеризувати наявність імуноглобулінів класу G та МСМ у плазмі крові хворих на розсіяний склероз.

Першим етапом роботи було отримання фракції IgG з використанням методу афінної хроматографії на протеїн А-сефарозі. Зразки плазми крові здорових донорів і пацієнтів з розсіяним склерозом об'ємом 250 мкл наносили на колонку з протеїн А-сефарозою (загальний об'єм колонки - 1 мл). Після нанесення плазми крові проводили «відмивання» матеріалу, що не зв'язався зі сорбентом 0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4. Елюцію проводили з використанням 0,1 М гліцин-НСІ буфера, рН 2,0. Концентрацію IgG вимірювали на спектрофотометрі за 280 нм. Чистоту отриманих IgG перевіряли електрофоретично. Наступним етапом нашого дослідження було визначення вмісту МСМ у плазмі хворих на розсіяний склероз. Для цього відбирали по 200 мкл плазми крові хворих, додавали 200 мкл 1,2 н НСІО<sub>4</sub> та інкубували проби за 4 °С 5 хв, центрифугували 15 хв за 10 000 г. Після цього відбирали по 200 мкл супернатанту. За допомогою 5М КОН доводили рН до 7,0, інкубували 5 хв за 4 °С і центрифугували 15 хв за 10 000 г. Після центрифугування відбирали 200 мкл супернатанту і додавали 1 мл 96 % С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>ОН, інкубували за 4 °С 5 хв і центрифугували 15 хв за 10 000 г. Після описаних дій повністю відбирали супернатант і вимірювали вміст МСМ на спектрофотометрі за таких довжин хвиль: 210, 238 та 254 нм. Електрофоретично доведено отримання фракції загального пулу пептидів із молекулярною масою до 5 кДа без високомолекулярних білкових домішок.

У результаті дослідження виявлено, що концентрація IgG у крові 68,4 % пацієнтів у межах норми, у 10,5 % – більше норми та в 21,1 % – менше норми. Також показано, що вміст МСМ у плазмі крові хворих за довжини хвилі 210 нм виявився вищим у 64,7 % пацієнтів з розсіяним склерозом порівняно з групою умовно здорових пацієнтів, за 238 нм - у 58,8 % хворих, за 254 нм - у 100 % хворих. Дані стосовно вмісту IgG у кровотоці пацієнтів доводять те, що необхідно дослідити якісний склад фракції IgG у пацієнтів із розсіяним склерозом, а не кількісний їхній аналіз. Отримані дані про вміст МСМ за розсіяного склерозу можуть свідчити про активізацію процесів патологічного протеолізу і про наявність синдрому ендогенної метаболічної інтоксикації.

**Попко І., Федоренко В., Остап Б., Остап І.**

**РОЛЬ ПЛЕЙОТРОПНИХ РЕГУЛЯТОРІВ LSR2 ТА XNR\_1338 У ВТОРИННОМУ МЕТАБОЛІЗМІ *STREPTOMYCES ALBIDOFILAVUS* І *STREPTOMYCES CYANOGENUS***

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
imbiaprilia@gmail.com*

**Popko I., Fedorenko V., Ostash B., Ostash I.** THE ROLE OF PLEIOTROPIC REGULATORS Lsr2 and XNR\_1338 IN SECONDARY METABOLISM of *STREPTOMYCES ALBIDOFILAVUS* and *STREPTOMYCES CYANOGENUS*. We conducted bioinformatic and genetic analysis of genes encoding Lsr2 and XNR\_1338. Transconjugants of *Streptomyces albidofilavus* and *Streptomyces cyanogenus* carrying plasmid-borne copy of these genes were generated and their initial studies were performed.

Рід *Streptomyces* - це грамозитивні актинобактерії з високим вмістом GC пар у геномі, які являють собою найпоширеніше природне джерело антибіотиків. Вивчення їхніх геномів показало, що вони містять величезну кількість генних кластерів природних сполук, які не експресуються за стандартних умов. Впливаючи на вторинний метаболізм, регулятори діють на двох рівнях: специфічному для біосинтезу певного антибіотика і плеїотропному (глобальному). Саме маніпулювання регуляторними генами є одним із способів активації мовчазних кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів.

Попередні дослідження ґрунтувалися на визначенні основних нуклеоїд-асоційованих білків і глобальних регуляторів транскрипції, які задіяні в активації мовчазних кластерів у *Streptomyces*. Нуклеоїд-асоційовані білки - невеликі регулятори транскрипції, що беруть участь у процесах, пов'язаних із ДНК, включаючи експресію генів, захист ДНК, рекомбінацію / репарацію, структурування нуклеоїдів. Також вони здатні регулювати вірулентність, вторинний метаболізм і стресостійкість. Білок Lsr2 зв'язує АТ-багаті ділянки і, як правило, пригнічує експресію генів профагів та інших генів, унікальних для штаму. Делеція гена *lsr2* у *Streptomyces venezuelae* зумовила активацію п'яти кластерів, які за стандартних умов не транскрибуються.

Це свідчить, що Lsr2 функціонує як основний регулятор для більшості спеціалізованих метаболітів у *S. venezuelae*, пригнічуючи активність цих кластерів у лабораторних умовах. Однак роль нуклеоїд-асоційованих

білків Lsr2 в регуляції генів у *Streptomyces* і досі лишається до кінця не вивченою.

За допомогою біоінформативного аналізу з'ясовано, що ген *XNR\_1338* виявляє гомологію до фосфодіестерази і забезпечує гідроліз фосфодієфірного зв'язку. Фосфодіестераза, яку кодує ген *XNR\_1338*, виявляє найближчу спорідненість до ортолога *Streptomyces sampsonii*.

Для дослідної роботи нами використано дві плазмиди: pMC109 із вставкою гена *lsr2* та pTES1338 (містить ген *XNR\_1338*). Обидві плазмиди введено у штами *S. albidoflavus* і *S. cyanogenus* за допомогою міжродової кон'югації *E. coli* – *Streptomyces*. У роботі використано два штами *S. cyanogenus* *S136* та *AlanI*. Штам *S136* в нормі продукує три види ландоміцинів (ландоміцини А, В і D). Штам *S. cyanogenus AlanI* містить делецію гена *lanI*, що забезпечує регуляцію біосинтезу ландоміцину А. Отримано шість штамів: *S. albidoflavus* (*XNR\_1338*), *S136* (*XNR\_1338*), *AlanI* (*XNR\_1338*), *S. albidoflavus* (*lsr2*), *S136* (*lsr2*) та *AlanI* (*lsr2*). Для дослідження антибіотичної активності отриманих штамів використали низку ферментативних і неферментативних поживних середовищ культивування, зокрема, TSA, OM та SFM. Тест-культурами слугували *Bacillus cereus* і *Debariomyces hansenii*. У разі надекспресії гена *lsr2* спостерігали незначне підвищення синтезу вторинних сполук. Також отримано транскон'югант *S136\_Lsr2* з підвищеним синтезом синього пігменту. Подальші дослідження спрямовані на вивчення саме цього транскон'юганта.

**Ридкін О., Кошла О., Остап Б.**

**MIA МУТАНТИ *STREPTOMYCES ALBUS* J1074 МАЮТЬ ЗМІНЕНУ ВІДПОВІДЬ  
НА РІЗНІ СТРЕСОВІ ЧИННИКИ**

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
budarahta@gmail.com

**Rydkin O., Koshla O., Ostash B.** THE MIA MUTANTS OF *STREPTOMYCES ALBUS* J1074 DISPLAY ALTERED RESPONSE TO VARIOUS STRESSES. Post-transcriptional tRNA modifications play a significant role in bacterial morphogenesis. In *Streptomyces albus* J1074 the *miaA* and *miaB* genes encode tRNA(adenosine(37)-N6)-dimethylallyltransferase and tRNA(N6-isopentenyl adenosine(37)-C2)-methylthiotransferase respectively, involved in modification of A37 residue in tRNA<sub>XXXA</sub>. Deletions of these genes lead to changes in morphogenesis, resistance to antibiotics, diamide and caffeine.

Стрептоміцети є основними продуцентами антибіотиків серед бактерій. Одним із найкращих модельних об'єктів є *Streptomyces albus*. Головна його перевага - простота у культивуванні та добре вивчений геном. На сьогодні багато відомо про роль різноманітних транскрипційних регуляторів у біології стрептоміцетів, однак майже невивченою залишається роль пост-транскрипційної модифікації тРНК. Відомо, що тРНК бактерій зазнає різноманітних модифікацій у процесі свого дозрівання. У цьому задіяно від 1 до 10 % генів, що кодують білки, для бактерійних геномів. Найбільш модифікованими є 34-та і 37-ма позиції у тРНК. Наші попередні дослідження виявили, що мутації за генами *miaA* та *miaB*, які пренілюють і тіометилують залишок аденіну в 37-й позиції тРНК<sub>XXXA</sub>, мають значний вплив на вторинний метаболізм і споруутворення в *S. albus* (Koshla O. et al., 2019). Ця робота є продовженням вивчення властивостей *mia* мутантів.

Мета роботи – з'ясувати, як впливають на ріст і стійкість до різноманітних стресових чинників у *S. albus* делеції генів *miaA* та *miaB*.

У роботі використано штами з делеціями генів *miaA* або *miaB*, подвійний мутант і дикий тип *Streptomyces albus* SAM2. Виявили, що мутанти  $\Delta$ *miaA* та  $\Delta$ *miaAB* за тривалого (10 діб) культивування в 1 % агаризованому середовищі GYM формують колонії у стерильних зонах коло дисків з деякими антибіотиками у значно вищих кількостях порівняно з диким типом. Так само подвійний мутант  $\Delta$ *miaAB* є чутливішим до двох токсичних речовин різного типу дії: кофеїну (пошкодження цілісності ДНК) (Quiñones-González CA et al., 2019) та діаміду (окиснення дисульфідних містків у білках). Наразі немає пояснення, чому мутанти мають підвищену стійкість до антибіотиків і знижену – до кофеїну та діаміду. Ми припускаємо, що містрансляція білків, викликана *mia* мутаціями, відіграє певну роль у всіх виявлених змінах. Щоби отримати доказ містрансляції у мутантах, ми використали репортерну систему на основі гена глюкуронідази *gusA*, у відкритій рамці читування якого другий або 286-й кодони замінені на стоп-кодон. Виявили, що рівень  $\beta$ -глюкуронідазної активності штамів  $\Delta$ *miaA* та  $\Delta$ *miaAB* вищий, ніж у SAM2. Отже, наші результати вказують на підвищену супресію кодона UAG у *mia* мутантів порівняно з вихідним штамом.

**Сіроха Д., Городна О., Ложко Д., Карпов П., Лівшиць Л.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПАТОГЕННОГО ЕФЕКТУ МУТАЦІЙ У ГЕНАХ AR ТА WT1  
У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ПОРУШЕННЯМИ РОЗВИТКУ СТАТІ**

Інститут молекулярної біології і генетики, НАНУ  
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03143, Україна  
di.siroha@gmail.com

**Sirokha D., Gorodna O., Lozhko D., Karpov P., Livshyts L.** INVESTIGATION OF PATOGENIC IMPACT OF MUTATIONS IN AR AND WT1 GENES IN PATIENTS WITH DISORDERS OF SEX DEVELOPMENT. Disorders of sex development (DSD) are a various group of conditions with atypical development of reproductive system.

Values of DSD differ from 0,02 % to 1,7 %. We have analyzed novel mutation X:67722884 T/G Ile836Ser (GRCh38) in androgen receptor (AR) gene, detected in patient with Androgen insensitivity syndrome (AIS) by Sanger sequencing, and novel *de novo* mutation 11:032413528 T/C (GRCh37) in Wilms tumor 1 (WT1) gene detected by WES (Whole exome sequencing). Using bioinformatical tools, we determined these mutations as pathogenic genetic factors of DSD.

Порушення розвитку статі (DSD, Disorders of sex development) є розмаїтою групою клінічних фенотипів, які характеризуються порушеннями розвитку органів репродуктивної системи (Hughes, 2019).

За різними даними, частота новонароджених з порушеннями розвитку статі коливається від 0,02 % до 1,7 % (Blackless, 2000). Пацієнти з DSD страждають на безплідність і мають підвищений ризик раку гонад. Наразі встановлено 158 відомих генів, мутації в яких залучені до патогенезу, серед яких *AR* (Androgen receptor) та *WT1* (Wilm's tumor 1). Обидва білки, що кодуються цими генами, є транскрипційними факторами. У той час як *WT1* бере участь у розвитку уrogenітальної системи й активує ряд генів-ростових факторів (Kim, 2007) незалежно від статі, *AR* залучений до диференціації та розвитку чоловічого фенотипу (McEwan, 2016).

Мета нашої роботи - дослідити нові генетичні чинники патогенезу DSD і молекулярну природу патогенності знайдених мутацій у когорті 23 пацієнтів з України.

У 4 пацієток (46,XY, SRY+) зі синдромом нечутливості до андрогенів (Androgen insensitivity syndrome, AIS) у результаті секвенування за Сангером у гені *AR* нами виявлено раніше описані: сеймсенс-мутацію X:67723745 C/T Ser889= (rs137852594) (Hellwinkel, 2001); міссенс-мутації X:67722905 T/C Ile843Tpe (rs9332970) (Weidemann, 1996), X:67722943 C/T Arg856Cys (rs886041132) (Malmgren, 2008), а також раніше не описану міссенс-мутацію X:67722884 T/G Ile836Ser (GRCh38). Ця мутація була показана як потенційно патогенна такими предикторами, як SIFT, PolyPhen і Mutation Taster. Також показано можливе фосфорилування нового Серину кіназами PKC, MAPK, CDK1, CDK7, CDK9, Akt, що вже відомі як такі, що фосфорилують *AR* і впливають на його функціонування. Також варто зазначити, що заміна Ile836Ser спричинює збільшення на 1,58 Å відстані між радикалами 836 амінокислоти та Фен916, що показаний як критичний для функціонування білка (Tahiri, 2001).

У пацієнта (46,XX, SRY-) з клінічними ознаками гонадального дисгенезу, в результаті WES (Whole exome sequencing, повноекзомне секвенування), вирівнювання та фільтрування отриманої послідовності за допомогою програмного забезпечення VarSeq (Golden Helix), було виявлено *de novo* сеймсенс мутацію гена *WT1* 11:032413528 T/C (GRCh37), що раніше не була описана. Оскільки вказана мутація є синонімічною заміною, а також у зв'язку з тим, що для даного гена також відомі різноманітні альтернативні транскрипти, було вирішено перевірити мутацію на можливий вплив на сплайсинг.

Нами встановлено порушення сайту розпізнавання для білка сплайсосоми SRp40, що спричинює втрату одного з цинкових пальців у ДНК-зв'язувальному домені білка.

Таким чином, виявлені нами нові мутантні варіанти генів *AR* і *WT1* необхідно розглядати як нові чинники патогенезу у пацієнтів з DSD.

**Скворцова М.<sup>1</sup>, Тістечок С.<sup>1</sup>, Федоренко В.<sup>1</sup>, Тимчук І.<sup>2</sup>, Конечний Ю.<sup>2</sup>, Громико О.<sup>1</sup>**

**РІЗНОМАНІТТЯ АКТИНОМИЦЕТІВ РИЗОСФЕРИ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* E.DESV. (АНТАРКТИКА) ТА ЇХНЯ АНТИБІОТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПРОТИ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНИХ ШТАМІВ ХВОРОБОТВОРНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

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

<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
вул. Зелена, 12, м. Львів, 79005, Україна  
mstarling98@gmail.com

**Skvortsova M., Tistechok S., Fedorenko V., Tymchuk I., Konechnyi Y., Gromyko O.** DIVERSITY OF ANTARCTIC ACTINOMYCETES FROM *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* E. DESV. RHIZOSPHERE AND THEIR PROPERTIES AS THE PRODUCERS OF ANTIBIOTIC COMPOUNDS. In this study we present results of 16S rRNA gene sequencing of isolates. Using the data obtained, we can more clearly evaluate the correlations between the genus and antibiotic properties of the strains. Furthermore, 11 strains of actinomycetes from *Umezawaea* genus were isolated for the first in the Antarctic. Further studies of such rare genera have the prospect of discovering completely new biologically active compounds.

Висока частота спалахів інфекційних захворювань людини, які важко піддаються лікуванню наявними на сьогодні хіміотерапевтичними препаратами, зумовлена постійним виникненням мультирезистентних штамів патогенних мікроорганізмів. Бактерії порядку *Actinomycetales* – добре відомі продуценти широкого кола антибіотиків, ферментів та інших біологічно активних сполук (Matsumoto A., 2017). Актинобактерії, які населяють мало вивчені природні біотопи, такі як Антарктида, викликають дедалі більший науковий інтерес з погляду фізіологічних особливостей і їхніх властивостей як продуцентів. Рідкісні види мікроорганізмів, які з більшою ймовірністю можна виділити з унікальних біотопів, можуть бути продуцентами нових біологічно активних сполук із раніше не описаним механізмом дії.

Мета нашої роботи - оцінити різноманіття актиноміцетів ризосфери *D. antarctica* E. Desv. о. Галіндез (Антарктика) і вивчити їхні антибіотичні властивості проти мультирезистентних штамів хвороботворних мікроорганізмів.

У попередніх дослідженнях зі зразків ризосфери *D. antarctica* E. Desv., зібраних на території антарктичного о. Галіндез (65.245875°, 64.257505°), було виділено 43 ізоляти. У цьому дослідженні в результаті філогенетичного аналізу послідовностей гена 16S рРНК виділені ізоляти афілійовано до п'яти родів актиноміцетів: *Streptomyces* (17 ізолятів), *Umezawaea* (11 ізолятів), *Micromonospora* (8 ізолятів), *Kribbella* (5 ізолятів) і *Micrococcus* (1 ізолят).

Для вивчення антимікробної дії ізолятів використано мультирезистентні штами збудників шпитальних інфекцій. 60,5 % ізольованих актиноміцетів затримували ріст хоча б одного з використаних тест-штамів. Досліджено розподіл ізолятів за спектром антибіотичної активності в межах родів, які вони представляють. 4 з 5 ізолятів роду *Kribbella* приблизно в однаковій пропорції пригнічували кожен із тест-культур, за винятком *S.albicans*, яку не пригнічував жоден ізолят цього роду. Серед стрептоміцетів найбільше ізолятів затримували ріст MRSA (36,8 %) і *S.albicans* (по 26,3 %). Три ізоляти цього роду (15,8 %) були антагоністами *P. aeruginosa* і по одній культурі затримували ріст *E. coli* і *B. cepacia complex*. Половина ізолятів, афілійованих до роду *Umezawaea*, були здатні пригнічувати ріст усіх використаних у роботі тест-культур. 60 % ізолятів, що належать до *Micromonospora* sp., були антагоністами MRSA, *E. coli* і *S. albicans*. Представник роду *Micrococcus* затримував ріст лише *S.albicans*. Отримані дані свідчать про наявність у ризосфері *D. antarctica* E. Desv. значної кількості актиноміцетів рідкісного і мало вивченого роду *Umezawaea*. Виявлений широкий спектр антимікробної дії досліджуваних ізолятів, особливо *Umezawaea* spp., відкриває перспективи для подальшого їхнього дослідження, особливо з погляду скринінгу нових біологічно активних речовин.

**Титенко Н.**

#### ПОЛІМОРФІЗМИ ЗА SSR-ЛОКУСАМИ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ІНТРОГРЕСИВНИХ РОСЛИН *TRITICUM AESTIVUM*/ *T.MIGUSCHOVAE*

Національний Університет «Києво-Могилянська Академія»

вул. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна

nataliia.tytenko@ukma.edu.ua

**Tytenko N.** SSR-loci are broadly used in genetic research in particular in the genome structure analysis for an introgression presence. In the present paper, it has been shown that the DNA amplicon spectra of F<sub>1</sub> hybrids (*Triticum aestivum* (AABBDD) x *T. miguschovae* (AAGGDD)) obtained with the primers to the chromosome-specific loci of microsatellite repeats do not always demonstrate an additive character (variance) compared to parental spectra. This reduces the ambiguity of conclusions regarding the genome structure of hybrids from wide hybridization.

Найнебезпечнішим серед захворювань злаків, які викликають фітопатогени *Fusarium*, є фузаріоз колоса, асоційований із накопиченням мікотоксинів у зерні. Стійкість до розвитку захворювання має кількісний характер. У пшениці м'якої відповідні QTLs картовані майже на всіх хромосомах, і досі немає ліній, які б характеризувалися повною резистентністю. Розширення пулу генів стійкості до фузаріозу за рахунок їхньої інтрогресії від дикорослих родичів - ефективний напрям створення таких ліній.

Особливо перспективні для використання як джерела генів стійкості стійкі штучно створені гексаплоїдні амфідиплоїди, зокрема, *Triticum miguschovae* Zhir.(AAGGDD), які утворюють фертильних нащадків при схрещуванні з пшеницею м'якою.

Від схрещування пшениці м'якої сортів Вдала і Панна з пшеницею Мігушової було отримано гібриди F<sub>1</sub> і фертильні нащадки наступних поколінь. Гібридні нащадки, стійкі до фузаріозу, мають бути вивчені стосовно структури їхніх геномів на наявність і гомеологічну належність чужинного хроматину. Мікросателітний аналіз, ефективний інструмент констатації перебудов у конкретних хромосомах геному, може бути використаний за умов поліморфізму спектрів ампліконів, отриманих із праймерами до хромосомоспецифічних маркерів, між компонентами схрещування, використаних для отримання гібридів F<sub>1</sub>. Поліморфними вважалися спектри, коли амплікони мали різну рухливість (повна інформативність) або ДНК одного компонента схрещування не формувала амплікон (неповна інформативність, ефективна лише якщо нуль-алелем характеризується сорт пшениці м'якої). Серед 52 перевірених SSR локусів, специфічних до хромосом усіх семи гомеологічних груп пшениці м'якої, не було отримано продуктів ампліфікації з праймерами до 10 з них. Для гомеологічних груп 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ідентифіковано інформативних локусів 3, 2, 0, 1, 3, 2, 2 відповідно. SSR-локусів з обмеженою ефективною інформативністю було знайдено 1 і 3 для хромосом гомеологічних груп 2 і 3. SSR-локусів з обмеженою та неефективною інформативністю виявлено 1 і 2 для гомеологічних груп хромосом 4 і 6. Решта 32 локуси виявилися неінформативними через збіг розміру продуктів ампліфікації в електрофоретичному спектрі ампліконів ДНК з відповідними праймерами.

Алелі мікросателітних локусів успадковуються як кодомінантні. Отже, ДНК рослин F<sub>1</sub> має давати картину ампліфікації, яка є адитивною між спектрами обох батьківських генотипів. Для деяких мікросателітних локусів (*Xgwm311-2A*, *Xbarc124-2A*, *Xwmc285-4D*, *Xgwm179-5A*, *Xbarc86*, *Xwmc434-5D*) спектри ампліконів, отриманих з ДНК рослин F<sub>1</sub> від схрещування сортів пшениці та пшениці Мігушової, не являли собою адитивну картину

спектрів батьківських форм, а демонстрували деякі відмінності від неї: відсутність одного з ампліконів, властивих компонентам схрещування, або появу додаткових ампліконів у спектрі. Отримані результати показують, що неадитивність гібридних геномів стосовно генотипів, використаних для їхнього отримання, зареєстрована раніше як на рівні кількості ДНК, так і на рівні експресії генів, поширюється також на локуси мікросателітних повторів. Цей факт слід враховувати під час спроб використати SSR-локуси як елементи, що маркують хромосомні ділянки, в тому числі інтрогресивного походження.

**Шакун Д., Сирватка В., Федоренко В.**

**БІОЛОГІЧНА ДІЯ СПОЛУК ЦЕРІУ НА ГРУНТОВІ БАКТЕРІЇ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
dashashakun010@gmail.com*

**Shakun D., Syrvatka V., Gromyko O., Fedorenko V.** THE BIOLOGICAL EFFECT OF CERIUM COMPOUNDS ON SOIL BACTERIA. Cerium is a chemical element from the group of lanthanides, which has order number 58 and is a member of the group of rare earth metals. The main aim of the study was to investigate influence of different cerium compounds in concentrations 0,01-10 mM on soil bacteria.

Грунтові бактерії, зокрема, актиноміцети продукують різноманітні натуральні продукти – вторинні метаболіти: антибіотики, фунгіциди, протиракові речовини, стимулятори росту рослин, що широко використовуються у фармацевтичній промисловості й сільському господарстві. Потенціал отримання біологічно активних речовин є недооціненим через «мовчазні» кластери генів, що не експресуються за звичайних умов культивування мікроорганізмів. У різних штаммах актиноміцет наявні більше 20-ти кластерів, які кодують відомі або передбачені шляхи біосинтезу вторинних метаболітів, проте активно продукуються тільки 3-5 біологічно активних продуктів. Тому актуальним є вивчення регуляції вторинного метаболізму, зокрема, активація продукції біологічно активних речовин у різних штаммах ґрунтових бактерій.

Є різні підходи для активації експресії «мовчазних» кластерів генів, зокрема, генетичні, хімічні та біологічні методи. Застосування речовин різної хімічної природи, нутрієнтів і специфічних сполук для скринінгу нових біологічних продуктів - це перспективний напрям біотехнологічних досліджень. Показано позитивний вплив рідкоземельних елементів на активацію біосинтезу вторинного метаболізму. Зокрема, виявлено позитивний вплив скандію на активацію «мовчазних» генів у представників роду *Streptomyces* sp. Актуальними є дослідження впливу інших рідкоземельних металів, зокрема, церію, на ґрунтові бактерії. Тому метою дослідження було вивчення дії на ґрунтові бактерії сполук церію в різних концентраціях. Церій - представник рідкоземельних елементів із групи лантаноїдів (порядковий номер 58), що не має вираженої біологічної необхідності в життєдіяльності мікроорганізмів. Відомо, що наночастинкам церію властива антибактеріальна дія, зокрема, у частинок розміром не більше 51 нм і не зв'язаних з іншими хімічними речовинами.

Усі експерименти проведено на базі Колекції культур мікроорганізмів продуцентів антибіотиків (кафедра генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка). Вивчали криві та характер росту ґрунтових бактерій за умов впливу різних сполук церію (хлориду, нітрату й оксиду церію) в різних концентраціях (0,1-10 мМ). Встановлено дію церію на індукцію оксидативного стресу в ґрунтових бактерій. Результати досліджень вказують на толерантність ґрунтових бактерій до високих концентрацій сполук церію.

**Шемедюк А.**

**ВЛАСТИВОСТІ СТРЕПТОМІЦИН-СТІЙКИХ МУТАНТІВ *STREPTOMYCES ALBUS* J1074,  
ОТРИМАНИХ МЕТОДАМИ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ ТА СЕЛЕКЦІЇ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
nastya.shem@ukr.net*

**Shemediuk A.** PROPERTIES OF STREPTOMYCIN-RESISTANT *STREPTOMYCES ALBUS* J1074 MUTANTS OBTAINED BY GENETIC ENGINEERING AND SELECTION METHODS. In this study, we present comparative characterization of *Streptomyces albus* that contain the same point mutation K88E in *rpsL* gene but created in different way: using genetic engineering methods (*S. albus*K88E) and search of spontaneous streptomycin resistant mutants (*S. albus*KO-1297). Therefore, *S. albus*KO-1297 have higher index of antibiotic activity than *S. albus*K88E that show their diversity. Further studies have the prospect of discovering differences in their genomes.

Незважаючи на стрімкі темпи розвитку медицини та біотехнології, в останнє десятиліття спостерігається зростання рівня резистентності патогенних мікроорганізмів до більшості відомих антибіотиків (Shima J, 1996). Ця проблема спонукає до пошуку й розробки нових діючих препаратів і модифікації вже наявних. Головними продуцентами антибіотиків є грампозитивні бактерії роду *Streptomyces*. Детальніше вивчення молекулярних процесів, механізмів регуляції синтезу є передумовою виявлення нових класів сполук і створення промислових штамів. Одним із доведених способів отримання промислових продуцентів антибіотиків є

мутанти стрептоміцетів, які містять мутації гена *rpsL*, що кодує рибосомний білок S12. У 1996 р. японський професор Козо Очі виявив низку алелів *rpsL*, що стимулюють продукцію антибіотиків. Наявність цих мутацій у різних бактерій зумовлює зміну точності трансляції, зміну активності окремих метаболічних шляхів. Білок S12 - частина динамічного сайту декодування, де забезпечується правильне розпізнавання кодонів. Це пояснює вплив *rpsL*-мутацій на точність трансляції, хоч послідовність подій від мутацій до зміни активності окремих метаболічних шляхів досі потребує детального вивчення. Спонтанні мутанти за *rpsL*-геном потенційно можуть нести й інші мутації, необхідні для збалансованої, нормальної життєдіяльності клітини. Наявність кількох мутацій може надати перевагу спонтанному мутантові порівняно зі створеним штучно геном, наприклад, методами генетичної інженерії, і такий штам буде продуктивнішим. Однак на сьогодні в науковій літературі не описано порівняння *rpsL*-мутантів різного походження, які містили б ідентичну *rpsL*-мутацію.

У роботі виконано порівняльну характеристику мутантів *Streptomyces albus*, які містять однакову точкову мутацію K88E в гені *rpsL*, але створені різними методами: за допомогою методів генної інженерії (*S. albus*K88E) і за допомогою пошуку мутантів, стійких до стрептоміцину (*S. albus*KO-1297), серед спонтанних мутантів (Lopatniuk M, 2019). Досліджувана мутація виявляється у зміщенні залишку лізину на глутамат у 88-му положенні рибосомного білка S12. Такі мутації у стрептоміцетів спряжені з фенотипом надпродукції антибіотиків. Обрана тема роботи актуальна, оскільки пов'язана з проблемою підвищення продуктивності штамів-продуцентів антибіотиків.

У результаті роботи виявлено, що *S. albus* KO-1297 має вищі показники антибіотичної активності, ніж штам, створений методами генетичної інженерії. Це вказує на наявність додаткових мутацій у геномі спонтанного мутанта, виявлення яких становить неабиякий теоретичний і практичний інтерес. У ширшому розумінні робота свідчить про те, що геноми мутантів бактерій, отриманих методами традиційної селекції, можуть містити складні набори мутацій навіть після одного циклу відбору. Ці мутації можуть бути відмінні від тих, що доступні завдяки методам генетичної інженерії.

**Шкляр А., Серга С.**

**WOLBACHIA ВПЛИВАЮТЬ НА КІЛЬКІСТЬ ОВАРІОЛ У ЯЄЧНИКАХ  
DROSOPHILA MELANOGASTER**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ННЦ «Інститут біології та медицини»  
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 03022, Україна  
Aupa4yps99@gmail.com

**Shkliar A., Serga S. WOLBACHIA AFFECTS OVARIOLE NUMBER IN DROSOPHILA MELANOGASTER.**

The bacterial symbiont Wolbachia is harbored by a wide variety of invertebrates, affecting their reproductive functions. For the first time, in this study, we showed the impact of Wolbachia on the ovariole number, which in turn might affect the number of offspring and spread of bacteria in populations. We revealed that Wolbachia infection with wMel and wMelCS genotypes results in a 2-fold increase of ovariole number in isofemale lines from the natural *Drosophila* population of Uman city.

Бактерії роду *Wolbachia* – це ендосимбіотичні альфа-протеобактерії, які передаються здебільшого трансоваріально й інфікують велику кількість видів безхребетних, серед яких і *Drosophila melanogaster* (J.H. Werren et al., 2008). Причини успіху бактерій у популяціях даного виду залишаються дискусійними та не до кінця визначеними. Раніше було показано, що *Wolbachia* генотипу wMel здатні підвищувати фекандильність інфікованих мух (Serga et al, 2014). Кількість оваріол впливає на число відкладених яєць у певні періоди життя комах (особливо на початку життя), а отже, і на кількість нащадків (P. S. Schmidt et al, 2005). *Wolbachia* інфікують гонади дрозофіл від найперших стадій розвитку, тому потенційно можуть впливати на даний показник. Отже, мета роботи - визначити кількість оваріол у самок *D. Melanogaster*, інфікованих різними генотипами бактерій.

У роботі використовували ізосамкові лінії дрозофіли (Ум 8-12, Ум 15-12 та Ум 25-12), започатковані з представників природної популяції м. Умань (2012 р. збору), які інфіковані різними генотипами *Wolbachia*. Лінія Ум 8-12 інфікована генотипом wMel, лінія Ум 25-12 – генотипом wMelCS, а лінія Ум 15-12 – не інфікована бактерією.

Щоб отримати генетично ідентичні інфіковані й неінфіковані лінії, ми застосували обробку антибіотиком.

Для цього всі лінії утримували на середовищі з додаванням антибіотика тетрацикліну в концентрації 0,25 мг/мл протягом двох поколінь.

Самки, інфіковані будь-яким генотипом *Wolbachia*, характеризуються достовірно більшим числом оваріол порівняно зі самками того ж генотипу, не інфікованими бактерією. Самки лінії Ум 8-12 мають більшу кількість оваріол порівняно зі самками лінії Ум 25-12 ( $U=6$ ,  $p\leq 0,05$ ), проте різниця на межі достовірності. Відмінність у кількості оваріол у цих ліній може залежати як від генетичних особливостей ліній, так і від генотипів *Wolbachia*.

Таким чином, наявність бактерій *Wolbachia* генотипів wMel та wMelCS зумовлює збільшення кількості оваріол у інфікованих самок *D. melanogaster* приблизно удвічі.

Автори висловлюють подяку науковому керівникові д.б.н. І.А.Козерецькій.

**Юсип І., Остап І.**

**ВПЛИВ ГЛОБАЛЬНИХ РЕГУЛЯТОРІВ XNR\_1338, LSR2 І BLDD  
НА ВТОРИННИЙ МЕТАБОЛІЗМ *STREPTOMYCES TSUKUBAENSIS***

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
iryna99yusyp@ukr.net*

**Yusyp I., Ostash I.** GLOBAL REGULATORS XNR\_1338, LSR2 AND BLDD IN SECONDARY METABOLISM OF *STREPTOMYCES TSUKUBAENSIS*. Tacrolimus - immunosuppressant, produced by *Streptomyces tsukubaensis* NRRL18488, widely used in current clinics. It is synthesized by a polyketide I synthase-non-ribosomal peptide synthase (PKSI-NRPS) system encoded by the *fkb* cluster. Within *fkb* cluster two regulators of tacrolimus production are revealed: *fkbN*, *fkbR*. To increase macrolide synthesis by producing strain we used heterologous expression of global regulators genes *xnr\_1338*, *lsr2* and *bldD*.

Такролімус — імуносупресант макролідної будови, відкритий у 1984 р. Він широко застосовується в медицині, в основному, після пересадки органів. Крім того, такролімус має противірусну та протигрибкову активність, тому з кожним роком попит на цей препарат зростає, що зумовлює розробку нових промислових штамів-продуцентів.

Біосинтез такролімуса у стрептоміцетів добре вивчений. Він відбувається завдяки системі полікетидна синтаза I — нерибосомна пептидна синтаза (ПКСИ-НРПС), яка кодується кластером генів *fkb*. Тепер відомо більше 15 штамів-продуцентів, одим із яких є *S. tsukubaensis* NRRL18488. Кластер генів біосинтезу такролімуса включає основні гени (*fkbQ*, *fkbN*, *fkbM*, *fkbD*, *fkbA*, *fkbP*, *fkbO*, *fkbB*, *fkbC*, *fkbL*, *fkbK*, *fkbJ*, *fkbI*, *fkbH*, *fkbG*, *allD*, *allR*, *allK* і *allA*) і додаткові (додаткові гени *tcs6-fkbR/tcs67*). За даними секвенування виявлено два гени, що кодують регулятори *fkbN*, *fkbR*. Основну роль у регуляції синтезу такролімуса відіграє ген *fkbN*, оскільки за деактивації цього гена синтез повністю припинявся. Нокаут гена *fkbR* знижував продукцію такролімуса до 20 %, порівняно зі штамом дикого типу. За надпродукції генів *fkbN* і *fkbR* відбувалося збільшення синтезу такролімуса на 55 і 35 %, відповідно.

Використання глобальних регуляторів у стрептоміцетів дає змогу розробляти нові штамми-продуценти біологічно активних речовин. У даному дослідженні вивчався вплив надекспресії гетерологічних генів *xnr\_1338* (ген фосфодіестерази), *lsr2* (кодує нуклеїд-асоційований білок, що регулює експресію генів) і *bldD* (залучений у утворенні повітряного міцелію) на рівень біосинтезу такролімуса.

За допомогою міжродової конюгації зі штамми *E. coli* ET12567, які містили плазмиди з відповідними генами, відбувалося перенесення даних регуляторів у *S. tsukubaensis* NRRL18488. Отримані екскон'югантні штамми порівнювали за морфологією і продукцією такролімуса з батьківським штамом.

**Ярош М.Б., Вороненко А.А., Пирог Т.П.**

**ВПЛИВ ДРОБНОГО ВНЕСЕННЯ СУБСТРАТІВ НА СИНТЕЗ МІКРОБНОГО  
ЕКЗОПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ НА СУМІШІ АЦЕТАТУ Й ОЛІЇ**

*Національний університет харчових технологій  
вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01033, Україна  
yarosh238@gmail.com*

**Yarosh M.B., Voronenko A.A., Pirog T.P.** INFLUENCE OF SUBSTRATES FRACTIONAL ADDITION ON MICROBIAL EXOPOLYSACCHARIDE ETHAPOLAN SYNTHESIS ON ACETATE AND OIL MIXTURE. The *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 (producer of exopolysaccharide ethapolan) cultivation conditions on acetate and oil mixture providing pH stabilization and increasing of synthesis indices have been established.

Нещодавно (Вороненко, 2019) було встановлено можливість синтезу мікробного екзополісахариду (ЕПС) етаполану (продуцент *Acinetobacter* sp. IMV B-7005) на суміші ацетату й соняшникової олії. Основний недолік даної технології - незначний вихід цільового продукту через підвищення рН культуральної рідини, зумовленого споживанням ацетату, який транспортується до клітин продуцента симпортом із протоном.

Одним із шляхів вирішення даної проблеми є зниження початкової концентрації субстратів з подальшим дробним внесенням у процесі культивування.

Бактерії вирощували у рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л):

$\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 3,4;  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,4;  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,1;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 0,8;  $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,001.

Під час дослідження синтезу полісахариду за умов дробного внесення субстратів початкова концентрація ацетату натрію становила 0,5, 1,0 і 1,5 % (масова частка), а рафінованої соняшникової олії - 0,25, 0,5 і 0,75 % (об'ємна частка).

Через 24 та 48 год здійснювали повторне внесення субстратів. Якщо значення рН перед підживленням перевищувало 8,0-8,5, то замість ацетату вносили оцтову кислоту (об'ємна частка 0,35 %) та олію (0,25 %). В одному з варіантів рафіновану олію замінювали на змішану відпрацьовану.

Посівний матеріал вирощували на рафінованій соняшниковій олії (0,5 %).



Встановлено, що зниження загального вмісту ацетату й олії до 1/3 з подальшим їх дробним внесенням до кінцевої концентрації 1,5-3,0 % і 0,75-1,5 % відповідно дає змогу стабілізувати рН культуральної рідини на рівні 6,4-7,8 і отримати до 13,8 г/л ЕПС.

Водночас дробне внесення субстратів за підвищеної початкової концентрації ацетату в суміші до 1,5 % зумовлювало зростання рН до 8,0. Проблему вдалось усунути шляхом внесення оцтової кислоти (0,35 %) та олії (0,25 %) замість останньої порції монособстратів. Такий підхід дав змогу підвищити кількість полісахариду до 17,3 г/л.

Щоб знизити собівартість цільового продукту, на наступному етапі роботи вивчали можливість заміни рафінованої олії на змішану відпрацьовану в суміші з ацетатом для біосинтезу етаполану. Варто зазначити, що використання таких токсичних відходів сприяє також вирішенню низки екологічних проблем (Rafulla, 2012).

Експерименти показали, що заміна рафінованого субстрату на відпрацьований супроводжувалася підвищенням ЕПС-синтезувальної здатності в 1,13 разу (7,34 г ЕПС/ г біомаси) за незначного зниження концентрації синтезованого полісахариду (16,4 г/л) порівняно з використанням рафінованої олії.

Таким чином, у ході проведених досліджень встановлено, що використання дробного внесення субстратів дає змогу стабілізувати рН культуральної рідини на оптимальному для синтезу ЕПС рівні та підвищити концентрацію синтезованого етаполану до 16,4-17,3 г/л.

### **Hoisiuk Y., Ovcharenko O., Morgun B., Kuchuk M.**

#### GENETIC TRANSFORMATION *NICOTIANA TABACUM* AND *PETUNIA HYBRIDA* WITH ZRNASE GENE FROM *ZINNNIA ELEGANS*

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03143, Україна  
info@icbge.org.ua*

Phytopathogenic infections can affect plenty of cultivated plants. In the course of the joint evolution of pathogens and plants a tendency was formed that the survival of plants had become possible due to the presence of protective mechanisms.

Functions of extracellular ribonuclease genes presented in plant genomes are thought to be connected with phosphate remobilization from senescent parts, fungi and virus resistance (Kochetov, 2017). Plant extracellular RNases can participate in defense mechanisms by direct action on the development of pathogens in the intercellular space (Hugot et al., 2002). The transgenic expression of extracellular RNases can be efficiently used in combination with other resistance strategies to maximize protection efficiency and durability (Trifonova, 2012). Most of plant viruses are RNA containing, thus it can be proposed that RNases would be able to provide resistance to a broad spectrum of viruses. Transgenic wheat plants expressing heterologous RNase gene *rnc70* (from *Escherichia coli*) showed enhanced resistance to barley stripe mosaic virus (Zhang et al., 2001). While transgenic tobacco plants with extracellular ribonuclease gene ZRNase II of *Zinnia elegans* had 10-15 times increased resistance to the tobacco mosaic virus compared to control (Sangayev et al., 2010). Also there is a report demonstrating antifungal activity of RNase NE gene to *Phytophthora parasitica* and *Fusarium oxysporum* in transgenic tobacco plants (Hugot et al., 2002).

The aim of our research was to obtain transgenic plants of *Nicotiana tabacum* and *Petunia hybrida* with ZRNase II gene from *Zinnia elegans* L. encoding the S-like extracellular ribonuclease. Resistance of obtained plants to a number of pathogens both viral and fungal will be examined.

*Agrobacterium tumefaciens* strain AGL0 harboring *pbi-RNS* vector with neomycinphosphotransferase II (*npt II*) and ZRNase II genes was used for plant transformation. Leaf discs of aseptically grown plants of *Nicotiana tabacum* (cvs. Wiskonsin 38 and Samsun) and *Petunia hybrida* were used for genetic transformation. After *Agrobacterium*-mediated transformation plants resistant to 100 mg/l of kanamycin were obtained. Transgenic nature of 6 independent Km-resistant tobacco lines (*Nicotiana tabacum*) and 2 lines of *petunia* (*Petunia hybrida*) was confirmed by PCR analysis. Primers specific to *npt II* and ZRNase II genes were used for amplification.

Plants of *petunia* (*Petunia hybrida*) with S-like extracellular ribonuclease gene (ZRNase II) from *Zinnia elegans* L. were obtained by us for the first time in the world. They provide a useful model for investigation of plant pathogen interaction. Experiments to determine resistance of obtained plants to fungi (*Botrytis*, *Alternaria*, *Fusarium* and *Trichoderma*) and viruses (TMV, ToSV) are in progress.

### **Horenskyi H.**

#### IDENTIFICATION OF THE LINKAGE GROUP OF A GENE ASSOCIATED WITH THE "DEFORMED EYE" PHENOTYPE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER Y F CHO* SUBSTOCK

*V. N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine  
horenskyih@outlook.com*

This study is a continuation of the work to establish the genetic causes of the manifestation of the trait "deformed eye" in *Drosophila melanogaster y f cho* substock. At previous stage, we proved that the trait is inherited; that it is recessive contrary to the norm and that the gene / genes that are associated with the phenotype of interest are not linked to sex chromosomes. All of the above allowed us to apply an instantaneous method of linkage group determination

using a balanced lethal system. A series of crosses of the type (M x Cy / Sp; Ubx / Hu Tb e) was set up, where M are representatives of the studied substock with a pronounced mutant phenotype. In the offspring of such crosses, males were selected, sorted into groups of the same phenotype (Cy; Ubx or Cy; Hu Tb) and then crossed back with representatives of the studied substock with a pronounced mutant phenotype. The offspring of crossbreeds was recorded.

Among all the offspring backcrosses, not a single individual (out of more than 1000) was obtained with a combination of characters (“deformed eye” + curly wings). Such a result indicates that the gene associated with the studied phenotype is localized in chromosome 2.

Based on the fact that the studied mutation is located on chromosome 2, we can assume that the studied trait is controlled by over-expression of the *lola* and *pipsqueak* genes. Their joint overexpression can cause metastatic eye tumors in flies, which are referred to in the literature as an “eyeful” phenotype (Gutierrez-Avino, 2006). However, in the phenotypic norm, this stock does not have such tissue proliferation as in our experimental line. Supposedly paired with the *lola* and *pipsqueak* genes, a second factor that may be a part of Notch-signaling is overexpressed. Because the “eyeful” stock is unstable, and mutations in genes such as Delta, dUTX also lead to abnormal growth of the eye tissue (Herz, 2010).

*The author is grateful to associate professor N. Ye. Volkova (scientific supervisor) for the assistance in project realization.*

### **Hrab P., Ostash B.**

#### GENOME OF LANDOMYCIN PRODUCER STREPTOMYCES CYANOGENUS S136

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
pavlo.hrab@lnu.edu.ua*

*Streptomyces cyanogenus* S136 is a valuable producer of potent anticancer drug - landomycin A. Despite understanding the pathway towards the synthesis of landomycin A in *S. cyanogenus*, we didn't know much about the genome itself. Here we report the sequencing of the genome of S136 strain and describe its main features in the context of other streptomycete genomes.

Streptomycetes possess one of the biggest genomes in the Bacteria kingdom. They are also known as workhorses of modern antibiotic production. Each species has dozens of antibiotic biosynthetic gene clusters (BGCs), although most of them remain cryptic. Therefore, a hunt for new secondary metabolite BGCs is ongoing for both already known and newly sequenced *Streptomyces* genomes. *Streptomyces cyanogenus* was first introduced by Krasil'nikov in 1965 and then renamed by Pridham in 1970. The S136 is notable for production of a potent anticancer drug, landomycin A, which was first discovered by Henkel in 1990. It is not known as to whether S136 strain is true representative of originally described *S. cyanogenus* species. Since then, the main object of interest in S136 remains landomycin A synthesis pathway, while the genome itself remained unstudied.

To address this question, we have sequenced the genome of the abovementioned bacterium using a combination of ONT nanopore and Illumina NGS technologies. For the annotation of the constructed single contig, we used Prokka software with default parameters. Downstream analysis of the generated files included several default metrics, like overall contig length, CDS average length, tRNA gene count, rRNA operon count, average coding density. The tRNA genes were identified with barnmap and tRNAscan-SE software. To further investigate sequenced streptomycete in the context of other bacteria from genus *Streptomyces*, we constructed several phylogenetic trees, using both conservative proteins' sequences as concatemers and 16S rRNA data. Besides formal data description, hunt for new biosynthetic gene clusters was performed with existing tools.

The *S. cyanogenus* has a genome of ~8Mbp length, with 7590 CDS of an average length of 992 bp. The GC content of the genome is 72 %, with an average content density of 87 %. Barnmap annotated 90 tRNA genes, whereas tRNAscan-SE only 79. These numbers are slightly higher in comparison to an average tRNA gene abundance in streptomycetes. For phylogeny reconstruction, we used rRNA genes from 6 rRNA operons of *Streptomyces cyanogenus* and revealed heterogeneity of the sequences. One sequence differed markedly from the other five, and led to incongruent phylogenetic tree. The phylogenetic tree inferred from conservative proteins, pointed to the most likely neighbours of S136 strain on the species tree. Finally, we used antiSMASH tool alongside Deepbgc to annotate BGCs. Deepbgc, as expected for a neural network-based approach, predicted more BGCs than antiSMASH did (103 vs. 33). Detailed comparative analysis of the annotated BGCs is underway.

### **Laziuka Y., Kharchenko Y., Skrotska O.**

#### BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV V-7241 CELL-FREE SUPERNATANT

*National University of Food Technologies  
68, Volodymyrska St., Kyiv, 01033, Ukraine  
yulia\_lysenko\_99@ukr.net*

Currently, the biological synthesis of nanoparticles and their properties and application in the fields of medicine and the environment is an important area of nanotechnology (Singh, 2015). Synthesis of nanoparticles using chemical

and physical methods has several disadvantages. These drawbacks include the use of toxic solvents, the formation of dangerous by-products and high energy consumption. Therefore, it is important to obtain nanoparticles in a biogenic way, in particular by microorganisms. The mechanisms of biogenic synthesis of nanoparticles have not been fully studied. There are reports on the role of surface active agents (surfactants) in this process (Singh, 2014). Therefore, the producer of surfactants *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 (which was isolated from the oil contaminated environment) was selected for the study (Pirog, 2015).

The cultivation of *A. calcoaceticus* IMV V-7241 was carried out on liquid nutrient medium (g/l): tryptone – 10, NaCl – 10, yeast extract – 5. Cultivation parameters: temperature 30 °C, stirring 320 rpm, duration 24 h. The cell-free supernatant was obtained by centrifugation of the culture fluid for 30 min at 5000 rpm, followed by filtration through filters with 0.22 µm pore diameter. A solution of silver nitrate was added to the cell-free supernatant to a final concentration of 1 mM. The control was samples with a nutrient medium, in which silver nitrate was also added. The biogenic synthesis of silver nanoparticles was carried out for 240 h under the following conditions: temperature 4, 22, 30, 37, and 45 °C under static conditions, as well as with stirring (320 rpm) at a temperature of 30 °C. The optical density of the samples was measured on a photoelectric colorimeter at a wavelength of 440 nm.

Singh et al. confirmed that during the formation of silver nanoparticles increases the optical density of the test solution and the color change from transparent to brown (Singh, 2013). In our study, there was also a change of color from light to dark brown, which may indicate the biogenic synthesis of silver nanoparticles. Color changes in the control sample were not observed. About the optical density of the samples, the period from 48 hours to 240 hours, it increased up to 4.5 times (37 °C, static conditions), 7.2 times (45 °C, static conditions) and 3.1 times (30 °C, stirring 320 rpm). At the following biosynthesis parameters: 4, 22, 30 °C under static conditions, changes in optical density, as well as coloration of the samples were not observed.

Therefore, biogenic synthesis of silver nanoparticles using cell-free supernatant *A. calcoaceticus* IMV V-7241 is possible at the following temperatures – 37 and 45 °C under static conditions or at 30 °C and stirring (320 rpm).

#### Loboiko D.

#### THE LEVEL OF EMBRYONIC MORTALITY IN OFFSPRING OF DROSOPHILA OF DIFFERENT AGES, DEVELOPED ON MEDIUM WITH SUCCINIC ACID EXCESS

V. N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq. Kharkiv, 61022, Ukraine  
daruska08@gmail.com

During the life, a multicellular organism is exposed to various endogenous and exogenous factors. Aging is an inevitable process during which changes in gene expression levels, in physiological parameters, in structural and functional properties of genetic material and in reproductive capacity occur in the body. One of the mechanisms of aging and premature death of both cells and the whole organism is connected to intracellular accumulation of reactive oxygen species, which induces molecular changes or damages in proteins, lipids, and adversely affects the reproductive function of individuals and embryonic development of their progeny (Girardot et al., 2004). It is known that succinic acid is constantly formed in the body, and its oxidation in the Krebs cycle promotes ATP synthesis and resynthesis, increases antioxidant and antitoxic activity of cells, activates radioresistance and has antihypoxic effect (Labenska, 2016). The aim of this research was to study the effect of the parental age factor on embryonic mortality rates in offspring of wild-type *D. melanogaster* under increased ATP resynthesis.

The *D. melanogaster* wild-type stock *Canton-S* from the collection of Genetics and Cytology Department of VN Karazin KhNU (the National Heritage of Ukraine) was used for the study. Virgin imagoes of 3 days old were taken to form two groups: control one (n = 160) kept on standard medium and experimental one (n = 160) kept on medium with succinic acid (1 mg / ml) supplement. The F1 progeny from each group were kept separately for up to 3 or 20 days in vials and then placed into Petri dishes (10 pairs) with temporary medium for 12 hours. The number of eggs in the laying was calculated; the frequencies of total dominant lethal mutations (DLM), early and late DLM (Tikhomirova, 1990) were determined; the stages of embryonic death (Hill, 1945) were analyzed. Two-way analysis of variance for qualitative characteristics was used for the statistical analysis of data obtained.

It was found that the offspring of 3-days old parents fed with succinic acid supplement significantly reduced the level of late DLM (control group -  $19.08 \pm 1.79$  %, experimental one -  $6.52 \pm 1.06$  %). It was also shown that in the experimental group the number of early DLM decreased in 20-days old parents offspring ( $6.14 \pm 1.4$  %), compared to 3-days old ones ( $13.73 \pm 2.49$  %). The effect of succinic acid on the number of eDLM in both 3-days-old parents and 20-days old ones offspring was insignificant. There was also no effect of the test substance on the level of pDLM in 20-days imagoes offspring. The number of dead embryos at the organogenesis stage increased in the 20-days imagoes offspring, compared with the 3-days old imagoes offspring ( $32 \pm 2,65$  % and  $6,5 \pm 1,3$  %, in the control group respectively; and in the experimental one -  $36, 4 \pm 2,9$  % and  $19.08 \pm 1.79$  %, respectively).

Summarizing the results obtained we can say that succinic acid food supplement (1 mg / ml) was accompanied by reduction of late embryonic mortality only among the offspring of relatively young parents.

The author is grateful to associate professor N.V. Kolot for the idea of the research and to associate professor N. Ye. Volkova (scientific supervisor) for the assistance in its realization.

**Martyniak A., Vasylieva V., Olefirenko V.**

**DNA LOOP DOMAIN ORGANISATION IN GLIOBLASTOMA CELL LINES U251 AND T98G**

*Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine  
martynyakar26@gmail.com*

Nowadays, glioblastoma is one of the most frequent tumors of the central nervous system. The appearance and development of such tumors are accompanied by changes in the transcriptional profile of malignant-transformed cells. DNA loop domains are involved in different functional processes occurring in the cell nucleus and loop domain organization impacts transcription as well. So in this work, we presented the results of our research dedicated to the organization of DNA loop domains in glioblastoma cell lines T98G and U251, which differ in the level of malignancy.

The main feature of these cell lines is the ability to enter G1 stage after serum-free cultivation which means that all cells would be analyzed at the same cell stage. Both cell lines were cultivated in the same conditions: in DMEM medium with supplementing 10 % serum at 37 °C. Then cells were artificially arrested at the G1 phase due to the incubation in a serum-deficient medium for 48 h. The sample preparation was as follows. The concentrated cell suspension was mixed with 1 % low melting point agarose at 37 °C in proportion 1:2; 20 µl of the mixture was added on a microscope slide, covered with 1 % high-melting-point agarose. The slides were placed in lysis solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, 1 % Triton X-100 (pH 7.5)) at 4 °C overnight. Electrophoresis was performed in TBE buffer (0.089 M Tris-HCl, 0.089 M H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.002 M EDTA (pH 7.5)) at 4 °C (1 V/cm, 300 mA). After electrophoresis slides were stained with DAPI and immediately analyzed with a fluorescent microscope. Obtained images of comets were analyzed with software TriTekCometScore™.

It was revealed that these cell types differ in contour length of both surface and inner loops. The T98G surface loops were up to 75 kb in length and inner - up to 200 kb, while in U251 we observed only surface loops which were smaller than 120 kb, it may be caused by increasing in size of inner loops so they become too long to be able to exit into the gel. The relative amounts of DNA in the surface and inner loops in T98G and U251 differ as well: 0,07±0,01 for the surface and 0,05±0,01 for the inner loops in T98G and 0,11 for surface loops for U251 in case the inner loop are too big to be seen by this method. The correlation between the average relative amount of DNA in the comet tails and the average contour length of the longest loops in the comet tail showed that in T98G loop density is higher than in U251.

Compare to normal cells, malignant-transformed cells arrested at the G1 stage are characterized, first, by a decrease in the proportion of inner loops because of increasing their contour length, second, by the low density of the loops which in the malignant cells is quite similar to the cells with low transcriptional activity as was showed previously on the lymphocytes. Also, it is possible that the increase in the length of the inner loops and loop density decrease was observed due to their involvement in the transcriptional processes occurring in the malignant cells.

**Shinkevich M.V., Shapturenko M.N., Vakula S.I., Lugovnev A.V.,  
Borovko S.R., Kondratsiuk A.V., Kilchevsky A.V.**

**MAF VALUE OF THE HIRISPLEX SNP SYSTEM IN BELARUSIAN POPULATION**

*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus  
27, Akademicheskaya St., Minsk, 220072, Republic of Belarus  
m.shinkevich@igc.by*

There is a wide range of pigmentation in humans within and between ethnic groups. Many European populations, as well as Belorussian, are characterized by high phenotypic diversity associated with different levels of pigmentation. To date one of the most common systems for human genetic phenotyping is HIrisPlex that includes 24 SNPs located in 11 genes responsible for human eyes and hair color (Walsh S., 2016). In this study we have used this SNP panel to clarify the effectiveness of HIrisPlex in the Belarus population through genetic phenotyping data and MAF values.

A total of 376 individuals (222 females, 154 male) from the Belarus population were recruited for our study. All participants gave written informed consent before the study and were genotyped by NGS with Ion Ampliseq™ DNA Phenotyping Panel of 24 SNPs from HIrisPlex. To compare MAF among different populations (GBR, FIN, POL, IBS, CEU, RU, TSI) we used free online databases. Data about alleles frequencies for Polish and Russian populations were taken from publications Pośpiech et al. (2020; submitted) and Balanovsky O.P. et al. (2019) correspondently. The statistical significance of the MAF difference was assessed by using Z Score Calculator (<https://www.calculator.net>).

According to our results, the light pigmentation phenotypes are more typical for our population: 64 % of the individuals have bright eyes, 52 % - blondes and 43 % - brown-haired. In most cases, received genotyping data were consistent with phenotyping data. Statistical differences of alleles frequencies among Belarussian and other populations were noted through MAF counting for most SNPs. This finding is probably caused by a significant representation of dark-eyed and dark-haired phenotypes in the world populations. We obtained the lowest MAF values for alleles located in MC1R gene and associated with red hair color. The values of these SNPs in other populations are not so high too since the percentage of red-haired people in the Belarussian population and throughout the world is quite low. Spearman's correlation analysis revealed that the genetic profiles of Belarussian's are most similar to the Polish population ( $r=0,986$ ;  $p<0.05$ ).

Further investigation will allow us to validate the predictive ability of HIRISplex for forensic purposes in Belarus.

**Sokolowski W., Włodarczyk K., Kowalczyk B.**

**BIODIVERSITY APPRAISAL OF METHYLOBACTERIUM STRAINS ISOLATED FROM ROOT NODULES OF FABACEAE PLANTS WITH THE REP-PCR METHOD**

*Maria Curie-Skłodowska University  
Institute of Biological Sciences  
Department of Genetics and Microbiology  
19, Akademicka St., 20-033 Lublin, Poland  
wojciech.v.sokolowski@gmail.com*

The Rep-PCR method is based on the amplification of DNA fragments using repetitive sequence-based primers, e.g. BOX. The BOX primer is complementary to interspersed repetitive sequences present in prokaryotic genomes and facilitates amplification of sequences lying between these elements. BOX regions can consist of three subunits – BOX A, BOX B and BOX C and occur in the bacterial genome in many copies (Rademaker et al., 2004). The BOX-PCR technique is an adequate tool to present genomic polymorphism based on evolutionary conserved repetitive sequences (rep-PCR) fingerprinting in Gram-negative and several Gram-positive bacterial strains. This allows determining the diversity of strains and the level of their genomic similarity (Versalovic, 1994).

In this study, ten bacterial strains isolated from root nodules of various leguminous plants growing in south-eastern Poland were characterized by genomic DNA fingerprinting.

The analyzed strains representing Gram-negative bacteria formed small pink colonies on the medium with methanol. According to the 16S rRNA gene analyses, the isolates formed a common group with bacteria of the genus *Methylobacterium* (data not presented). The studied strains are part of the collection of the Department of Genetics and Microbiology, Maria Curie-Skłodowska University.

*Methylobacterium* is a genus of facultatively methylotropic  $\alpha$ -Proteobacteria able to metabolize one-carbon (C1) compounds as a sole carbon source and produce carotenoids, i.e. the main type of pigments in *Methylobacterium* spp. Some strains of this genus are able to form nodules on their host plant and fix nitrogen. They can stimulate seed germination and produce lytic enzymes and phytohormones, thus inducing plant systemic resistance. Many strains of the genus *Methylobacterium* represent PGPB (plant growth promoting bacteria). Some of them can also decompose toxic aromatic and aliphatic compounds (Dourado et al., 2015).

The dendrogram obtained with the BOX-PCR method (1 % coefficient level) revealed a high level of genetic diversity of the studied isolates. The strains were grouped in two clusters and one independent line with no similarity between them, respectively involving five, four, and one strain. Four of them (two strains in the first and second group) showed 100 % similarity to each other, thus they either represent the same strains or the method is not sufficiently precise to show the diversity between them. One strain (independent line) shows no similarity to the other isolates.

**Tseduliak V.-M., Dolya B., Ostash B., Ostash I.**

**IDENTIFICATION AND STUDYING OF THE ANTIBIOTIC RESISTANT MUTATIONS IN *STREPTOMYCES ALBUS*.**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
marta13mermaid@gmail.com*

Streptomycetes are major producers of bioactive compounds. These bacteria produce around a half of clinically-used antibiotics. But still remains the problem with the low yield of bioactive compounds. As is known, resistance to some antimicrobials leads to activation of secondary metabolism, so this problem can be solved through introduction of some resistance mutations into producer's genome.

The *Streptomyces albus* J1074 is one of the most widely used strains for expression of bioactive natural products (Zaburannyi et al., 2014). Its derivative SAM2 strain was obtained by genome engineering as a deficient in a pseudo-*attB* site, called *pseB4*, for integration of  $\phi$ C31 actinophage (Bilyk et al., 2013). Our study concerns the collection of the *S. albus* antibiotic-resistant mutant strains R94G, KO1295, KO1304, KO1305, KO1408. The R94G strain was derived from SAM2 by replacement of the *rpsL* wild type allele (encoding ribosomal protein S12) with the mutant allele with the missense mutation. This mutation leads to the increased accuracy of translation and enhanced production of secondary metabolites. Subsequently, streptomycin, lincomycin, erythromycin and rifampicin resistance mutations were introduced into R94G sequentially by selection of spontaneous mutants (Ostash et al., 2016). So KO1295 is resistant to streptomycin and it is the parental strain for KO1304 which is resistant both to streptomycin and lincomycin and so on. Thus selection finished with KO1408 which is resistant to four antibiotics.

The genomes of the strains were sequenced and point mutations in each one were identified. We have analyzed mutations spectrum in each of genomes and detected ones probably responsible for antibiotic resistance. In the KO1295 genome we revealed two nucleotide substitutions in 16S rRNA methyltransferase gene *rsmG* (XNR\_2999) which result in amino acid substitutions R15S and G40E. It has been known that the mutations in this gene results in resistance to streptomycin (Nishimura et al., 2007). As well we have identified the rifampicin resistance missense mutation in the

$\beta$ -subunit of bacterial RNA-polymerase gene (XNR\_3712) in the KO1408 genome. This type of mutations in this gene is described to cause rifampicin resistance in *Streptomyces* (Kim et al., 2005).

In the KO1304 genome we have identified three deletions in the XNR\_2147 gene which product is TetR family transcriptional regulator. We suggest that this regulator represses downstream transmembrane efflux protein gene (XNR\_2146). The latter probably encodes transporter of lincomycin that is normally slightly expressed. In the mutant strain its expression is upregulated which decreases susceptibility to lincomycin. To confirm our hypothesis, we have conducted bioinformatics analysis of XNR\_2146 product, created the phylogenetic tree based on XNR\_2146 orthologs and paralogs. The investigated protein didn't show similarity to known exporters of lincomycin. Therefore, we decided to analyse the of XNR\_2146 impact on lincomycin resistance. This gene was cloned into plasmid vector pTES and introduced into SAM2 and KO1305 strain by conjugal transfer. Ability of the transconjugant stains to inhibit growth of *Bacillus cereus* and susceptibility to lincomycin were compared. Also we confirmed increased level of secondary metabolites of the mutant strain KO1305 based on presence of the inhibition zone of *B. cereus* around the samples, while the zones around the wild type samples were absent.

Thereafter we identified mutation in the intergenic region that possibly is responsible for erythromycin resistance. In our opinion this substitution in the region between XNR\_5430 and XNR\_5431 encoding ankyrin and hypothetical protein, respectively, altered level of expression of XNR\_5431 and it resulted in erythromycin resistance. We constructed a new plasmid to verify the presence of mutation in the aforementioned locus.

**Włodarczyk K., Sokółowski W.**

STUDYING THE GENOMIC DIVERSITY OF *CHAMAECYTISUS ALBUS*  
ENDOPHYTES USING BOX-PCR TECHNIQUE

*Maria Curie-Skłodowska University in Lublin*  
*Institute of Biological Sciences, Department of Genetics and Microbiology*  
*19, Akademicka St., Lublin, Poland*  
*k.wlodarczyk06@gmail.com*

*Chamaecytisus albus* is a species strickly protected in Poland and in 2016 it was pronounced as “critically endangered” in the “Polish Red List of Fern and Flowering Plants” (Kaźmierczakowa, 2016). The natural habitat of *Chamaecytisus albus* is located near Hrubieszów, and this is the only site where this plant can be found in Poland in natural ecosystem (Przemyski, 2009).

*Chamaecytisus albus* belongs to the *Fabaceae* plants which can form symbiotic interactions with the Gram-negative soil bacteria of the *Rhizobiaceae* family. Microsymbionts of *Chamaecytisus* were not studied till now, therefore collection of strains dwelling in root nodules of this plant were isolated, and the aim of the study was to determine genomic diversity of these bacteria using BOX-PCR technique.

Genomic DNAs was isolated from 23 strains, and some amplicons were obtained using PCR with primers complementary to the BOX sequences. The fingerprints were compared and analysed with the Bio-Profil-1++ software using the UPGMA method. The results of hierarchical grouping was presented as a dendrogram. The BOX-PCR analysis revealed the presence of 11 different genotypes, so it can be stated that studied group composed of 23 isolates derived from *Chamaecytisus albus* nodules showed a high degree of genomic diversity.

## ЕКОЛОГІЯ / ECOLOGY

**Белей Л., Куців Л.**БУКОВІ ЛІСИ ЗАПРУТСЬКИХ ГОРГАН У МЕЖАХ КАРПАТСЬКОГО  
НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ: ПРИРОДООХОРОННИЙ АСПЕКТ

*Карпатський національний природний парк  
вул. В. Стуса, 6, м. Яремче, 78500, Івано-Франківська обл., Україна  
snpr@meta.ua*

**Beley L., Kutsiv L.** BEECH FORESTS OF THE ZAPRUT GORGANY WITHIN CARPATHIAN NATIONAL NATURE PARK: ENVIRONMENTAL ASPECT. Characteristic of beech forests within separate geomorphologic Zaprut Gorgany massif of the territory of Carpathian National Nature Park on the right bank of the Prut River is described.

Загальна площа суцільного масиву Запрутських Горган (схили гори Маковиця (984,5 м н. р. м.), що входить до складу Ямнянського природоохоронного науково-дослідного відділення, становить 518,0 га. Вкриті лісом землі займають площу 495,1 га. Лісистість їх – 95,6 % (дуже висока). Найбільше лісів цього масиву належить до заповідної зони – 253,2 га (51,14 %). У віковій структурі цього масиву переважають пристигаючі та стиглі деревостани віком понад 60 років.

Особливо цінні природні екосистеми цього гірського масиву – букові природні добре структуровані ліси – 126,2 га (25,5 %), з яких:

- 1) ялицево-букові – 118,7 га (86,4 %);
- 2) ялицево-букові з домішкою смереки – 7,5 га (5,5 %).

Велика ділянка добре структурованого природного буково-ялицевого лісу (площею 118,7 га) лежить на правому березі р. Прут, де закладена постійна пробна площа № 51 (кв. 2, вид. 3). Лісівничі дослідження на даній ділянці проводяться упродовж 15-ти років. Деревостан різновіковий. Тип лісу – волога ялицева субучина (С<sub>3</sub> – яцБк). Вік окремих дерев становить більше 100 років. Деревостан міститься на західному середньої крутизни (18°) схилі неподалік скелі «Слон».

Основні напрями досліджень на постійній пробній площі:

- 1) вивчення ходу росту, продуктивності, природного поновлення, наметової структури деревостану;
- 2) оцінка динаміки лісівничо-таксаційних показників деревостану;
- 3) оцінка стійкості деревостану.

Особливості цього букового насадження: виконує захисні та водорегулюючі функції.

Деревостан характеризується значною амплітудою коливання віку (21–100 років). Високопродуктивний двох'ярусний деревостан високого класу бонітету (I) утворений деревами бука лісового. Середній діаметр дерев бука лісового становить 29,5 см. Окремі екземпляри мають 68–72 см у діаметрі. Повнодеревність стовбурів відносно висока. Середня висота I ярусу – 27,5 м; II ярусу – 18,5 м. Склад деревостану: I ярус – 10Бк; II ярус – 10Бк. Повнота – 0,6. Продуктивність бука лісового становить 410,5 м<sup>3</sup>/га. Загальна продуктивність деревостану – 586,4 м<sup>3</sup>/га. Середній приріст деревостану – 8,28 м<sup>3</sup>/га. Оцінка стійкості деревостану є високою. Життєві позиції бука лісового як біологічного виду надалі залишаються дуже високими.

Загалом охорона старовікових лісів парку здійснюється відповідно до основних завдань, визначених Законом України «Про природно-заповідний фонд» і «Положення про національний природний парк» за такими основними завданнями:

- збереження та відтворення природних комплексів і об'єктів;
- охорона та захист природних комплексів і об'єктів;
- проведення наукових досліджень і спостережень за станом лісів.

**Винарчик Н.<sup>1</sup>, Цвілинюк О.<sup>1</sup>, Кіт І.<sup>1</sup>, Думич О.<sup>1</sup>, Коваль Н.<sup>2</sup>**ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ОЗЕРА У ПАРКУ «ЗНЕСІННЯ»  
ЗА ДОПОМОГОЮ БІОІНДИКАЦІЇ ТА ФІТОТЕСТІВ

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
nataliya\_vynarchyk@ukr.net

<sup>2</sup>Національний університет «Львівська політехніка»  
вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79000, Україна  
beshnadia@gmail.com

**Vynarchyk N., Tsvilyniuk O., Kit I., Dumych O., Koval N.** RESEARCH OF THE LAKE CONDITION IN THE DEMONSTRATION PARK BY BIODIN INDICATION AND PHYTOTESTS. The state of park “Znesinnya” lake was researched by bioindication and phytotest methods. There were assessed two biotopes of the lake with different anthropogenic press. *Lepidium sativum* is more sensitive to Ti content than zooplankton communities.

Водойми Львова є складовими історико-культурних ландшафтів, чутливо реагують на антропогенне навантаження і відповідають на нього негативними змінами, які можна моніторити за допомогою біоіндикації та фітотестування.

Для досліджень відбирали проби води і придонних відкладів із озера у парку «Знесіння» (м. Львів) (1.08.2019 р.) у двох місцях: у т. зв. зоні антропогенного тиску (штучно насипаний пісок на узбережжя й у воду) і більш-менш природній зоні. Камеральне опрацювання проб зоопланктону та визначення структурних показників популяцій зоопланктону проводили згідно із загальноприйнятими у гідробіології методиками. Фітотестування здійснювали за допомогою рослин крес-салату (*Lepidium sativum* L.). Насіння пророщували у чашках Петрі на воді та придонних відкладах, довжину осьових органів вимірювали через 7 діб. Вміст важких металів у піску, воді та мулі визначали за допомогою енергодисперсійного рентгенофлуоресцентного експрес-аналізатора EXPERT 3L.

У воді озера виявили 23 таксономічні одиниці зоопланктону, із них 8 видів належить до нижчих червів класу Rotatoria (30 % від загального числа видів), 11 видів – до ракоподібних підряду Cladocera (48 %) і 4 – до ряду Copepoda (28 %). Зоопланктон мав ротаторно-кладоцерний характер. Видова подібність зоопланктону у водоймі парку «Знесіння» між біотопом, що зазнав антропогенного тиску (піщане дно), та природним біотопом становила 54,5 %. Значення видового різноманіття (за індексом Шеннона) змінювалось у широких межах, зокрема, 0,30–1,97 (піщане дно), 0,20–1,86 (природне дно); обчислення індексу видового багатства Маргалєфа показали його нижчі значення на евтрофованій природній ділянці. Рівень органічного забруднення оцінювали за показниками сапробності. У водоймі виявили 21 індикаторний вид. Значення сапробності за Пантле-Буком коливалися в межах 1,54–1,76 (піщане дно) та 1,87–1,95 (природне дно).

Згідно із класифікаційними критеріями, прийнятими в Україні, обидві ділянки водойми у парку «Знесіння» є β'-мезосапробні (II клас якості води), за станом води – «хороші», за ступенем чистоти – «досить чисті», за трофністю – мезоевтрофні.

Результати фітотестування придонних відкладів із різних дослідних зон достовірно не відрізнялись. У половини рослин був некроз верхівкової меристеми кореня. Вирощування фітотестів на воді із зони антропогенного тиску призвело до пригнічення довжини коренів на 34 %, а з природної зони – на 22 % порівняно з контролем (водопровідна вода).

Аналіз елементного складу показав високий вміст заліза у мулі та піску, який становить 7,4 і 6,7 масової процентної частки відповідно. У придонних відкладах і воді із різних зон озера виявлено дуже токсичний важкий метал Ті у значних кількостях (2,2–4,3 масової процентної частки), який, можливо, спричиняє некроз меристем коренів крес-салату.

Таким чином, можна стверджувати, що рослинні тест-об'єкти є більш чутливими до наявності зафіксованої кількості Ті, ніж зоопланктонні угруповання.

### Драч Ю.

#### ЕКОМОРФИ БРІОФІТІВ МАЛОГО ПОЛІССЯ (ЛЬВІВСЬКА ОБЛАСТЬ)

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Сакаганського, 1, Львів, 79000, Україна  
yuradrach91@gmail.com*

**Drach Yu.** NEW INFORMATION ABOUT MOSSES OF THE MALE POLISSYA (LVIV REGION). 173 species of bryophytes which belong to three division (Bryophyta (158 species), Marchantiophyta (14 species) and Anthocerotophyta (1 species) were identified. Nine species of bryophytes are indicated for the Lviv region for the first time. In the spectrum of ecomorphs subheliophytes (30.1%), mesophytes (29.8%) and cold-tolerant (59.8%) species prevailed in the study area. Four officially rare and 25 regionally rare species were identified.

На території Львівської області Мале Полісся розташоване в межах Волино-Подільської височини та межує з Волинською височиною, Розточчям, Гологоро-Вороняцьким структурно-денудативним горбогір'ям (Подільська височина). Збір мохоподібних проводили маршрутным методом на території 13 ділянок у межах Малого Полісся (Волицький ботанічний заказник, Романівський ландшафтний заказник, заповідне урочище «Сторонибаби», урбоєкосистема м. Буськ, залізнична колія в околицях с. Закомар'я, околиці сіл Куличків, Зарваниця, Ожидів, Полтва, Завади, Підлисса та Шопки), де було обстежено різноманітні типи екоотопів (болота, заболочені ліси, заплави річок, дубові, соснові, букові та мішані ліси, урбоєкосистеми, залізничні колії та інші).

У результаті дослідження виявлено 173 види мохоподібних із 93 родів 42 родин 18 порядків трьох відділів: Bryophyta (158 видів), Marchantiophyta (14 видів) і Anthocerotophyta (1 вид). За кількістю видів переважають родини Brachytheciaceae (11,6 %), Pottiaceae (11,6 %), Amblystegiaceae (8,1 %), Mniaceae (6,9 %), Hurnaceae (5,8 %), Orthotrichaceae (5,8 %), Sphagnaceae (4,6 %), Bryaceae (4,6 %), Polytrichaceae (4 %) і Dicranaceae (3,5 %). Варто відзначити достатньо велику кількість видів родини Sphagnaceae, що свідчить про значні площі заболочених ділянок на території дослідження.

Аналіз екологічних особливостей мохоподібних із території дослідження показав, що серед досліджених видів у спектрі геліоморф переважають мохоподібні, яким властива широка екологічна амплітуда стосовно світла та які здатні рости як на добре освітлених, так і на трохи затінених місцях: субгеліофіти (30,6 %) і гемісціофіти (28,9 %). Значну частку становлять світлолюбні види: геліофіти (14,45 %) й ультрагеліофіти (7,5 %). Найменше тінелюбних видів – сціофітів (10,4 %). У спектрі гідроморф переважають мезофіти (29,9%) та ксеромезофіти



(20,1 %), які обирають помірно вологі умови. Значну частку становлять гідрофіти (3,0 %) та гігрофіти (14,0 %), які поширені тут у болотних екосистемах, заплавах річок та інших перезволожених ділянках. Трохи менше посухостійких видів: ксерофітів – 12,2 % і ультраксерофітів – 2,4 %. У спектрі термоморф на території дослідження більше половини видів є холодоотолерантними (59,8 %), що пояснюється здатністю більшості видів витримувати значні зниження температури під час зими. Значно менше помірно-теплолюбних (17,2 %) і теплолюбних (3,5 %) видів. Майже 20 % видів є індиферентними до температури або мають невизначений статус.

За соціологічною оцінкою на території дослідження знайдено чотири види, що включені до Європейського червоного списку мохоподібних (Red Data Book of European Bryophytes, 1995). Окрім цього, 25 виявлених видів мохоподібних є регіонально рідкісними (Бойко, 2010).

**Джупина Д., Ковальова А., Мегалінська Г.**

#### АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ВОДЯНИХ РОСЛИН

Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова  
вул. Пирогова, 9. м. Київ, 10130, Україна  
anna.megalin@ukr.net

**Jupina D., Kovaleva A., Megalinska A., Bilyk Z.I.** ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME AQUATIC PLANTS. The effect of *Zostera marina* and *Acorus calamus* aqueous and lectin-containing extracts on *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* cultures was investigated by the disk-diffusion method. *Zostera marina* has the highest antibacterial activity against *Escherichia coli*, and the lectin-containing extract of *Acorus calamus* L. effectively inhibits the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. These properties can be used for antibacterial therapy and for water remediation

За даними ВООЗ, 80 % проблем здоров'я людини пов'язане із якістю питної води. Антропогенне евтрофування та забруднення води – це основні процеси, що спричиняють деградацію річок, водосховищ, озерних систем і погіршення якості води. Річки в межах міст найчастіше забруднюються господарськими та фекальними стоками, тому в межах населених пунктів різко зростає кількість бактерій.

Між бактеріями водойм, водоростями, найпростішими є екологічні взаємозв'язки. Значну роль у самоочищенні води відіграють вищі водяні рослини.

Перспективними рослинами, що впливають на стан мікрофлори води, можуть бути *Acorus calamus* L. (Мегалінська, 2011) та *Zostera marina* L. (Кундельчук, Давидов, 2019). Тому метою нашого дослідження було вивчення антибактеріальної активності водної та лектинової витяжки зі сировини лепехи звичайної та зостери морської щодо таких умовно-патогенних мікроорганізмів: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans*. Антибактеріальну активність визначали диско-дифузійним методом, лектиномісну витяжку - шляхом екстракції в розчині нейтральних солей (Антонюк, 2003).

Як свідчать результати дослідження, найбільшу антибактеріальну активність виявила зостера морська щодо кишкової палички (зона гальмування  $15 \pm 1,4$  мм). Зона лізису для протей звичайного та стафілокока золотистого становила  $10 \pm 0,8$  мм. Кандида біліюча виявилася теж чутливою як до водного, так і до пектинового екстракту зостери морської. Як водна, так і лектинова фракції зі сировини *Zostera marina* діяли з однаковою активністю. Синьогнійна паличка виявилася індиферентною до екстрактів зостери.

Результати вивчення антибактеріальної активності водної та лектинової фракції сировини *Acorus calamus* свідчать, що лектинова фракція лепехи має більшу антибактеріальну активність, ніж водна. Найбільш чутливим до лепехи звичайної виявилися синьогнійна паличка і стафілокок золотистий. Ряд антибактеріальної активності лепехи звичайної має вигляд *Pseudomonas aeruginosa* > *Staphylococcus aureus* > *Proteus vulgaris* > *Escherichia coli*. Аналогічний ряд активності для *Zostera marina* L. - *Escherichia coli* > *Proteus vulgaris* > *Staphylococcus aureus* > *Candida albicans*.

Оскільки обидві рослини використовуються як лікарська сировина, можна обговорювати можливість їх сумісного використання для антибактеріальної терапії та для санації води.

**Кабалова Д., Васильчук О., Мегалінська А., Страшко С.**

#### ФІТОТОКСИЧНІСТЬ *VISCUM ALBUM* L. ЗАЛЕЖНО ВІД РОСЛИНИ – ДОНОРА ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН.

Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова  
вул. Пирогова, 9. м. Київ, 10130, Україна  
anna.megalin@ukr.net

**Kabalova D., Vasilchuk O., Megalinska A., Strashko S.** PHYTOTOXICITY OF *VISCUM ALBUM* L. DEPENDING ON PLANT - DONOR OF NUTRITIVES SUBSTANCES. A range of phytotoxicity of woody plants based on the determination of phytotoxicity coefficient is constructed in the work. It has been shown that the affinity of European mistletoe to host trees can be determined by the similarity of the phytotoxicity factor. Mistletoe white has an affinity *Acer platanoides* L., *Populus nigra* L., *Robinia pseudoacacia* L.

Останнім часом у зелених насадженнях різних типів, зокрема, у парках та внутрішньоквартальному озеленні міст, у насадженнях уздовж авто- й залізничних шляхів, у садах спостерігається масове заселення дерев омелою білою (*Viscum album* L.).

Омела біла – рослина-напівпаразит із родини омелових, яка налічує більше 90 видів. Для поширення насіння омели характерна орнітохорія, винятком є ялівцева омела, яка розповсюджується шляхом автохорії. Сучасна хвиля розмноження омели в Україні викликана (Рибалка, Вергеле, 2016) зниженням промислового виробництва, що через зростання ареалу та кормової бази позначилося на чисельності птахів, збільшенні якої і привело до масового заселення омелою дерев у парках, скверах і садах міст. За показниками щільності омели встановлено, що рослина-напівпаразит поширюється біокоридорами, якими виступають прирічкові насадження і насадження уздовж автомагістралей.

За даними І.Рибалка, омела спричинює уповільнення росту рослини-хазяїна, викликає дефоліацію, зменшення площі фотосинтезуючих тканин, зміну водного й вуглецевого балансів, що тягне за собою зниження стійкості деревних рослин проти хвороб і шкідників. Шкідливий вплив омели проявляється у значній втраті декоративності насаджень унаслідок всихання частини крони і навіть цілого дерева. На думку багатьох дослідників, є два способи боротьби з омелою – фізичне її знищення та розведення лісових порід, що омелою не заселяються. Тому важливо знайти діагностичний засіб оцінювання приуроченості омели до видів дерев-живителів.

Мета нашого дослідження - вивчити кореляцію між фітотоксичністю омели білої та фітотоксичністю рослин-живителів. Визначення коефіцієнта фітотоксичності виконували за методикою Іванова–Бистрової, в якій тест-об'єктом є проростки огірка. Для вивчення пріоритетності, яку проявляє омела біла під час вибору рослини-живителя, ми порівнювали фітотоксичну активність таких рослин-стимуляторів проліферації як *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* Mill та *Quercus robur* L. Таким чином, можна стверджувати, що приуроченість омели білої до видів дерев-живителів пов'язана з коефіцієнтом інтенсивності інгібування мітотичного поділу. Найбільшу спорідненість *V.album* проявляє до дерев-інгібіторів проліферації – *Acer platanoides* L., *Populus nigra* L., *Robinia pseudoacacia* L. Результати експерименту дають змогу побудувати ряд фітотоксичності деревних рослин. Приуроченість омели білої до дерев-живителів можна визначати за подібністю коефіцієнта фітотоксичності. Пріоритетними для цього напівпаразита виявилися рослини з коефіцієнтом фітотоксичності від -0,002 до -0,33. Вивчення кореляції між видовим складом фітоценозів природних угруповань і параметрами кривих фітотоксичності дають підстави зробити висновок, що у природних фітоценозах породи групуються за принципом: інгібітор – стимулятор, або стимулятор – стимулятор. У той же час омела біла обирає пріоритетні дерева-живителі за принципом подібності інгібітор - інгібітор.

**Корнацька О., Бойко Л., Кульчицька О.**

#### ПОКАЗНИКИ ХІМІЧНОГО ЗАБРУДНЕННЯ ВОДИ ПРИРОДНИХ І ШТУЧНИХ ВОДОЙМ ЛЬВІВЩИНИ

КЗ ЛОР «Львівський обласний центр еколого-натуралістичної творчості учнівської молоді» (ЛОЦЕНТУМ)  
вул. Івана Франка, 133, м. Львів, 79026, Україна  
lodenc@ukr.net

**Kornatska O., Boyko L., Kulchytska O.** INDICATORS OF CHEMICAL POLLUTION OF WATER IN NATURAL AND ARTIFICIAL WATER SOURCES OF LVIV REGION. In the investigated rural settlements of Lviv region, wells were contaminated with nitrates, and sometimes with ammonium and phosphates, as a result of non-compliance with sanitary requirements for the construction of cesspools, outside toilets and places of domestic animals, violations of the rules of application of mineral and organic fertilizers, etc.

Вода – унікальний безцінний природний ресурс, незамінна умова виникнення й існування життя на Землі. Прісна вода становить 3 % від загального обсягу води на планеті. Джерела прісної води дедалі більше виснажуються і забруднюються. Хімічне та біологічне забруднення відбувається внаслідок надходження у водойми зі стічними водами різних шкідливих домішок неорганічного й органічного походження, зокрема, мінеральних солей, комунально-побутових і сільськогосподарських відходів та ін. Збільшення концентрації мінеральних поживних речовин азоту, фосфору, калію у водоймах спричиняє «цвітіння» води. Унаслідок цього вода стає непридатною для тварин і людей, погіршується гідробіологічний стан водойм, відбуваються зміни в екосистемах.

Об'єктами дослідження були річки, озера, ставки Львова та Львівської області, а також криниці приватних домогосподарств і вода централізованого водопостачання. Предметом дослідження були хімічні показники води. Проби води відбирали гуртківці КЗ ЛОР ЛОЦЕНТУМ у м. Львові та селах Перемишлянського, Яворівського і Жовківського районів. Якість води аналізували за допомогою набору реактивів Visocolor ECO (Duren, Germany). Визначали такі показники: рН, загальну твердість, рівень нітратів, фосфатів і амонію; рН води визначали експрес-методом, інші показники – титриметричним методом.

Найгіршу екологічну ситуацію виявлено у криницях с. Кулява Жовківського району, де рівень загальної твердості, який відображає суму іонів  $Ca^{2+}$  і  $Mg^{2+}$ , збільшений удвічі, концентрація нітратів у чотирьох досліджених криницях становила в середньому 220 ммоль/дм<sup>3</sup>, що перевищує ГДК для питної води у 4,5 разу. У

криницях цього населеного пункту також виявлено сліди амонію ( $0,25 \text{ мг/дм}^3$ ) і фосфатів ( $0,4 \text{ мг/дм}^3$ ). В інших водних екосистемах – у ставках і річці – всі досліджувані показники води не перевищували показників норми.

Значне перевищення рівня нітратів ( $\sim 80 \text{ ммоль/дм}^3$ ) встановлене і для криниць у с. Підгородище, джерела у с. Давидів Перемишлянського району та в річці Терешка (сmt Старичі Яворівського району). Виявили, що фільтрування колодязної води зі с. Підгородище крізь вугільний фільтр (Бар'єр Стандарт, Балашиха, РФ) знижувало рівень нітратів і твердість води удвічі. В озерах м. Львова, зокрема, у водоймі парку Погулянка й у Піскових озерах на Кастелівці виявлено сліди амонію ( $0,4 \text{ мг/дм}^3$ ), водночас усі інші показники були в межах ГДК. Вода централізованого постачання відповідала санітарним нормам за усіма проаналізованими показниками.

Отже, у досліджених сільських населених пунктах Львівщини переважно криниці забруднені нітратами, інколи амонієм і фосфатами, що є наслідком недотримання санітарних вимог при облаштуванні вигрібних ям, надвірних туалетів і місць утримання худоби, порушення правил застосування мінеральних і органічних добрив. Нітраги можуть спричиняти метгемоглобінемію та порушення здатності еритроцитів переносити кисень до органів і тканин. До групи підвищеного ризику за таких умов належать діти до трьох років і особи похилого віку, хворі на анемію, люди із захворюваннями дихальної та серцево-судинної систем.

### Ковтун В.

#### ІНВАЗІЙНІ ЧУЖОРІДНІ ВИДИ ЯК ОДНА З НАЙГОЛОВНІШИХ ЕКОЛОГІЧНИХ ПРОБЛЕМ УКРАЇНИ

*Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»  
Київського Національного Університету імені Тараса Шевченка  
просп. Академіка Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна  
veronikakovtun23@gmail.com*

**Kovtun V. INVASIVE ALIEN SPECIES AS ONE OF THE MAJOR ENVIRONMENTAL PROBLEMS IN UKRAINE.** The article is devoted to the actual environmental problem that negatively affects the biodiversity of Ukraine. The author writes about the concept of invasion alien species, reveals the features of the attitude to this problem in Ukraine and in the world, draws attention to the need to solve the problem of invasion alien species at the legislative level of Ukraine.

Однією з основних екологічних проблем сучасного світу є проблема поширення інвазійних чужорідних видів тварин і рослин. Її актуальність підтверджується низкою чинних міжнародних документів (Конвенція ООН «Про біорізноманіття», Бернська Конвенція та ін.), до підписання яких долучилися більшість країн світу, у тому числі й Україна.

У Конвенції про біологічне різноманіття інвазійні чужорідні види розглядаються як види рослин і тварин, що вселилися у природні або напівприродні екосистеми чи середовища існування, не характерні для себе, є причинами змін, загрожують місцевому біологічному різноманіттю та завдають економічної або екологічної шкоди.

Існування інвазійних чужорідних видів є одним із семи основних факторів, що спричиняють втрату біорізноманіття на Землі (Алімов, Богущька, 2004), а деякі вчені вказують, що за масштабністю цей фактор посідає друге місце після безпосереднього знищення середовищ існування видів (Фінлейсон, 2015).

Вплив інвазійних чужорідних видів має численні екологічні й економічні наслідки. Екологічні пов'язані, по-перше, з загрозою локального вимирання корінних видів через конкуренцію за обмежені ресурси, такі як їжа, місця проживання та розмноження; по-друге, поширення екзотичних захворювань. Економічні полягають у зміні структури та функціонування цілих екосистем, унаслідок чого погіршується здатність екосистем надавати важливі екосистемні послуги. Також економічний вплив виявляється у зниженні врожайності сільського, лісового та рибного господарств, пошкодженні інфраструктури, зниженні ландшафтів та водойм і, як наслідок, у втраті рекреаційних цінностей і культурної спадщини (Sundseth, 2016). Крім того, інвазійні чужорідні види можуть стати проблемою для здоров'я людини, адже вони здатні викликати серйозну алергію та шкірні проблеми.

Для зменшення негативного впливу на біорізноманіття багатьма країнами світу розроблено національні стратегії щодо інвазійних чужорідних видів і створено розгалужену мережу комплексного вивчення, картування, прогнозування ризиків, управління цінними природними територіями з урахуванням можливих інвазій чужорідних видів на різних рівнях (Клімов, 2018).

В Україні, на жаль, не прийнято й донині Національну Стратегію щодо інвазійних чужорідних видів, хоч її проект, підготований за принципами Європейської Стратегії, було запропоновано провідними українськими вченими ще 2003 року. Немає й інших нормативно-правових актів, які б допомогли створити систему контролю за інвазійними чужорідними видами та регулювати їхнє розселення.

Загалом проблему інвазій чужорідних рослин і тварин на території України підіймають лише науковці (Івашенко, Бурда, 2014; Якимчук, 2014; Васенко, 2016 та ін.). Більш повно досліджено інвазії чужорідних видів рослин (Бурда, Пашкевич, Бойко, Фіцайло, 2015; Малиновський, 2018; Шевера, 2017), що ж до інвазій чужорідних видів тварин, то трапляються лише поодинокі публікації (Кошелев, Пересадько, Писанець, 2011).

Отже, нині в Україні є нагальна потреба вирішити проблему інвазій чужорідних видів. Саме у цьому напрямі плануємо проведення наших подальших досліджень.

**Кузема Н.<sup>1</sup>, Думич О.<sup>1</sup>, Данилик Р.<sup>2</sup>**

БІОІНДИКАЦІЯ СТАНУ р. ЗУБРА У МЕЖАХ м. ЛЬВОВА

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
toxor@ukr.net

<sup>2</sup>Національний лісотехнічний університет України  
вул. Ген. Чупринки, 103, м. Львів, 79057, Україна  
druslana@ukr.net

**Kuzema N., Dumych O., Danylyk R. BIOINDICATION OF THE ZUBRA RIVER STATE WITHIN LVIV.**

The state of Zubra River was researched by bioindication method. At the test stations 14 taxa of zooplankton were registered. The most abundant zooplankton hydrobionts were representatives of the waters heavily contaminated with organic matter. The data obtained on the saprobity of Zubra River water according to the three saprobic indices show that water quality of the river at the researched sites up to class II (April) and class III (May) of water quality.

Згідно з Регіональною доповіддю Департаменту екології та природних ресурсів ЛОДА про стан навколишнього природного середовища у Львівській області (2019), на екологічний стан поверхневих вод впливають різноманітні фактори: забруднення ґрунтів, атмосфери, зміна ландшафтно-структури, техногенне перевантаження території, неефективна робота каналізаційно-очисних споруд, засмічення річок побутовими й іншими відходами.

Р. Зубра – лотична водойма у Львівській області, яка бере початок у м. Львові та впадає у р. Щирка. У межах Львова вона забруднюється господарсько-фекальними стоками каналізаційної мережі району, протікає частково відкритим колектором, на цьому проміжку засміченому побутовими відходами. До гідрохімічних показників, які перевищують ГДК у р. Зубра, належать БСК<sub>5</sub>, ХСК, вміст амонію, заліза, завислих речовин (Регіон. доповідь, 2019). Окрім хімічних показників, для оцінки стану гідроекосистем застосовують структурно-функціональні показники розвитку гідробіонтів.

Будь-який стрес у водних екосистемах впливає на угруповання тварин і рослин, спричиняє реструктуризацію біотичного компоненту. Тому метою роботи було оцінити стан водойми за структурними показниками розвитку зоопланктону у весняний період.

Дослідження р. Зубра проводили на двох точках відбору гідробіологічних проб:

- 1) на ділянці р. Зубра вздовж ринку «Шувар» у місці перед впадінням побутових стоків від житлового масиву;
- 2) після впадіння побутових стоків у річковий стік у місці виходу на поверхню каналізованої ділянки річки.

На досліджуваних станціях виявили 14 таксонів зоопланктону, із них 9 належить до типу круглих червів класу *Rotatoria*, 4 – до класу ракоподібних підряду *Cladocera* та 1 – до класу ракоподібних ряду *Copepoda*. Коефіцієнт подібності зоопланктону за індексом Сьоренсена між досліджуваними ділянками був невисокий – 38 %. Показники чисельності зоопланктону р. Зубра виявились низькими і коливались у межах 14,44-62,53 тис.екз./м<sup>3</sup>. Найчисленнішими гідробіонтами на досліджуваних ділянках річки були *Brachionus calyciflorus* Pallas і *Cyclops strenuus* O. F. Müller, які є індикаторами вод, сильно забруднених органічною речовиною. У ході біоіндикаційних досліджень річки відстежували морфологію гідробіонтів. Виявили тератні форми двох видів коловерток: *Brachionus calyciflorus* Pallas і *Brachionus diversicornis* Daday.

Біоіндикацію р. Зубра проводили за індикаторними організмами зоопланктону за допомогою індексів Пантле-Бука, Зелінки-Марвана, Ротшайна. Загалом у водоймі виявлено 11 індикаторних видів: олігосапробів – 0, о-β-мезосапробів – 2, β-мезосапробів – 3, β-о-мезосапробів – 2, β-α-мезосапробів – 3, α-мезосапробів – 1. Отримані дані щодо сапробності води р. Зубра за трьома індексами показують схожі результати: приналежність якості води річки у весняний період на досліджуваних ділянках до II-III класів якості вод.

Виходячи із вищенаведеного, можна стверджувати, що господарсько-побутові стоки впливають на стан і розвиток зоопланктофауни досліджуваної ділянки р. Зубра.

**Нагірнич О.М., Джура Н.М.**

ЕКОЛОГО-ПРОСВІТНИЦЬКА РОБОТА У ВИХОВАННІ МОЛОДІ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
nahirnysh19@ukr.net

**Nahirnych O.M., Dzhura N.M. ENVIRONMENTAL EDUCATION FOR UPBRINGING AND ENLIGHTENMENT OF YOUTH.** Environmental education is viewed as a holistic cultural phenomenon, which includes the processes of learning, upbringing and personal development. Environmental education and enlightening can increase the

level of ecological culture in modern society, stimulate student environmental action and foster understanding of environmental problems and their solutions.

Сучасний стан ресурсів Землі значно погіршився. За останні роки різко скоротилися площа лісів і запаси нафти. Інтенсивний розвиток промисловості, сільського господарства спричиняє значне зростання споживання чистої питної і технічної води, а як наслідок – збільшення кількості забруднених різними домішками стічних вод. Крім цього, відбуваються зміни клімату, спричинені техногенним парниковим ефектом, кислотні опади, масове забруднення вод і ґрунтів різними хімічними речовинами. У час модернізації ведення господарства та розвитку нових технологій необхідно сформувавши у людей розуміння того, які наслідки вони спричиняють. Саме такі засади доводять необхідність впровадження екологічної освіти і просвіти для учнівської молоді, головним завданням якої є формування уявлень про характер впливу людини на довкілля і його наслідки, про принципи сталого природокористування.

Екологічна просвіта і виховання є основою для формування людини з високим почуттям обов'язку перед суспільством, людини, здатної відстояти власну соціальну позицію в умовах, коли стан довкілля катастрофічно погіршується і коли гостро відчувається дефіцит культури населення. У зв'язку з цим виникає потреба в організації еколого-просвітницької роботи. Важливу роль в екологічному вихованні та формуванні світогляду молоді відіграють еколого-натуралістичні центри, засоби масової інформації, громадські екологічні об'єднання, церква.

Ці інституції організовують просвітницьку роботу, спираючись на специфіку й особливості власної діяльності. Роль Церкви у вирішенні екологічних проблем полягає у створенні духовного підґрунтя для налагодження гармонізаційної взаємодії «людина-природа», яка передбачає формування екологічної свідомості населення. Тематичні еколого-просвітницькі зустрічі можна проводити у зручний для парафіян час.

Ми розробили тематику екологічних проповідей. З метою коректної та комплексної організації еколого-просвітницької роботи пропонуємо проводити еколого-психологічні тренінги, природоохоронні акції, екскурсії, ігри, досліди, вікторини, виставки, лекції і т. п. Реалізація подібних форм дає змогу сформувати в учнів екологічну культуру, свідомість, екологічний стиль поведінки, дати їм комплексне уявлення про особливості функціонування природи як цілісної системи.

Отже, ефективну організацію і проведення еколого-просвітницької роботи необхідно планувати на основі:

- 1) принципів гуманізму, науковості, неперервності, наскрізності й систематичності;
- 2) співпраці формальних і неформальних ланок екологічної освіти;
- 3) диференційованих методів і форм навчання, які враховували би вік та інтереси учнівської молоді.

Тільки за комплексного впровадження таких підходів можливе виховання екологічно свідомого населення. Саме екологічна освіта для якості життя кожної людини покликана виробити нову систему цінностей з метою мінімізації негативного впливу кожного з нас на природу.

### **Подан І., Джура Н.**

#### **ВМІСТ ГУМУСУ І КИСЛОТНІ ВЛАСТИВОСТІ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ У ПРОЦЕСІ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
iruna.podan@gmail.com*

**Podan I., Dzhura N. HUMUS CONTENT AND ACIDITY OF OIL-POLLUTED SOIL IN THE PHYTOREMEDIATION PROCESS.** Positive impact of oil, miscanthus and humates on the acidity and humus content of the studied soil was discovered. The presence of oil as an organic compound in sod-podzolic soil (with or without the impact of plants) contributed to a 5-fold increase in humus content in the soil samples tested compared to soil without oil. The highest pH value was discovered in the sample «oil-polluted soil + miscanthus + fulvital».

Забруднення ґрунту нафтою і нафтопродуктами внаслідок господарської діяльності людини є значним фактором впливу на довкілля. Нафтопродукти, завдяки високій адсорбуючій здатності ґрунту, довгий час зберігаються в ньому, змінюючи його фізико-хімічні й біологічні властивості. Кислотно-основні показники є найбільш динамічними в характеристиці фізико-хімічних властивостей ґрунтів і змінюються за антропогенного впливу, особливо за внесення добрив і хімічних меліорантів. Кислотність ґрунтів впливає на доступність і засвоєння рослинами поживних речовин.

Міскантус гігантський – багаторічна трав'яна інтродукована енергетична гібридна рослина, біомасу якої використовують як тверде або рідке біопаливо, що вирізняється високою врожайністю, здатністю рости на збіднених і забруднених ґрунтах. Відомо, що добрива гуматного типу і гумінові препарати позитивно впливають на ріст і розвиток рослин та якість рослинної продукції. Біостимулятори Гуміфілд і Фульвітал виробництва ТОВ «Агротехносоюз» є поліфункціональними препаратами з біозахисними властивостями, що забезпечують активний ріст і розвиток культури, формування високого та якісного врожаю. Виходячи з вищенаведеного, метою роботи було дослідити вміст гумусу і кислотні властивості нафтозабруднених ґрунтів у процесі фітореємедіації (ріст рослин міскантусу на нафтозабрудненому ґрунті за впливу гуматів).

Досліди закладали в польових умовах поблизу Старосамбірського нафтового родовища. Дослідні ділянки розміром 1 м<sup>2</sup> забруднювали сирією нафтою у кількості 10 л/м<sup>2</sup>. Контролем був ґрунт без нафти і без рослин, а також ґрунт без нафти з рослинами. Перед висаджуванням кореневища рослин міскантусу замочували у розчинах препаратів гуміфілд форте і фульвітал плус (0,2 г на 1 л води). У фазі вегетації двічі проводили обприскування надземної частини. Через 18 місяців росту з ризосфери рослин відбирали проби ґрунту для аналізу. У ґрунті визначали: вміст гумусу за методом Тюріна, кислотні властивості, зокрема, рНсол. – потенціометричним методом, гідролітичну кислотність – методом Каппена.

Ґрунти досліджуваної території – дерново-підзолисті, з низьким вмістом гумусу (1,74 %), слабокислі (рН сольової витяжки – 4,15; гідролітична кислотність – 6,12). Наявність нафти як органічної речовини сприяло збільшенню вмісту гумусу у досліджуваних пробах ґрунту: у варіанті «*нафтозабруднений ґрунт + міскантус + фульвітал*» – майже у 5 разів; у варіанті «*нафтозабруднений ґрунт + міскантус + гуміфілд*» вміст гумусу становив 7,6 %; у варіанті «*нафтозабруднений ґрунт без рослин*» – 9 %. Від кислотно-основних властивостей залежать доступність і рухомість елементів живлення, життєздатність мікроорганізмів, мінералізація органічної речовини, розчинення важкорозчинних сполук тощо.

Нафтозабруднені ґрунти у процесі фітореMediaції несуттєво змінювали кислотні властивості. Так, у варіанті «*нафтозабруднений ґрунт + міскантус + фульвітал*» рН сольової витяжки – 4,65, а гідролітична кислотність – 5,42. Така комбінація, очевидно, позитивно впливала на доступність поживних речовин для рослин, і як наслідок – ростові показники міскантусу зростали. Отже, нафта, міскантус і гумати позитивно впливали на вміст гумусу й кислотні властивості досліджуваних ґрунтів.

**Поліщук О., Лесів М., Семенюк Т., Антоняк Г.**

#### ІНТЕНСИВНІСТЬ АВТОМОБІЛЬНОГО РУХУ НА ВУЛИЦЯХ МІСТА ЛЬВОВА

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Сакаганського, 1, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: alex1994pol@gmail.com*

**Polishchuk O., Lesiv M., Semenyuk T., Antonyak H.** TRAFFIC INTENSITY IN THE STREETS OF THE CITY OF LVIV. Road transport is associated with a number of adverse environmental consequences, including atmospheric air pollution in large cities. The purpose of this study was to analyze traffic intensity in selected streets of the city of Lviv. The results show that the average traffic density on Stryiska, Lychakivska, Kulparkivska and Khutorivka streets is in the range of 700–1200 vehicles per hour during the daytime. The data obtained indicate that the main streets of Lviv are subjected to significant traffic load, which is accompanied by environmental pollution and adverse effects on human health.

Використання транспортних засобів є невід’ємною частиною життя сучасного суспільства. Однак функціонування транспортного сектору, поряд із усіма вигодами, створює і значні екологічні проблеми. До головних з них належить забруднення навколишнього середовища, насамперед атмосферного повітря, різноманітними шкідливими речовинами. Найвиразніше ці проблеми виявляються у великих містах, у яких погіршення якості повітря корелює з рівнем захворюваності населення. Метою роботи було дослідити інтенсивність транспортного навантаження на окремих вулицях міста Львова.

Для проведення дослідження було обрано п’ять дослідних ділянок, що розташовані у різних частинах міста, а саме: ділянки № 1 і 2 на вулиці Стрийській (в середній і кінцевій її частинах відповідно), № 3 – на вулиці Личаківській поблизу її перехрестя із вулицею Пасічною, № 4 – на вулиці Хуторівці, № 5 – на вулиці Кульпарківській поблизу її з’єднання із вулицями Антоновича й Окружною. Вулиці, на яких були обрані пункти спостереження, належать до головних транспортних артерій міста Львова. Інтенсивність транспортного руху визначали підрахунком транспортних засобів різного типу згідно з загальноприйнятою методикою. Спостереження здійснювали в різні періоди доби і повторювали тричі на кожній ділянці. Результати опрацьовували методами варіаційної статистики.

У процесі досліджень встановлено високу інтенсивність транспортного навантаження на обраних ділянках вулиць міста Львова. Зокрема, найбільшою інтенсивністю транспортного навантаження відзначаються вул. Личаківська (ділянка № 3) і Кульпарківська (ділянка № 5). На обох ділянках було зареєстровано майже 1200 транспортних засобів у перерахунку на 1 годину. Натомість середня частина вул. Стрийської (ділянка № 1) і вул. Хуторівка (ділянка № 4) відзначаються значно меншим рівнем транспортного навантаження (понад 700 транспортних засобів за годину). Кінцева частина вул. Стрийської (ділянка № 2) відзначається проміжним показником навантаження порівняно з іншими ділянками.

Крім того, проаналізовано співвідношення між кількістю транспортних засобів різного типу на досліджуваних вулицях м. Львова. Встановлено, що в структурі транспортного руху переважають легкові автомобілі, проте їхня частка відрізняється на різних ділянках. Вулиці Хуторівка і Кульпарківська відзначаються найвищою часткою легкових автомобілів (88% і 85,6% відповідно), а на трьох інших ділянках виявляється більша частка вантажних автомобілів різного типу і автобусів порівняно із вулицями Хуторівкою і Кульпарківською.

Отримані результати свідчать про високу інтенсивність транспортного навантаження на головних вулицях міста Львова. Значною мірою це пов’язано із зростанням кількості транспортних засобів і недостатнім

розвитком вулично-дорожньої мережі. Висока інтенсивність автомобільного руху спричиняє забруднення атмосферного повітря та інших компонентів довкілля, що становить ризик здоров'ю мешканців міста. Отже, актуальним є вирішення транспортних проблем у м. Львові та розробка способів зменшення транспортного навантаження на головних вулицях міста.

### **Прокопів Н.**

#### **БАЗА ДАНИХ «АДВЕНТИВНА ФРАКЦІЯ ФЛОРИ БИСТРИЦЬКОЇ УЛОГОВИНИ»**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника  
вул. Галицька, 201, м. Івано-Франківськ, 76008, Україна  
ploshanska\_n@ukr.net*

**Prokopiv N. DATABASE ADVENTIVE FRACTION OF FLORA OF BYSTRICA BASIN.** The database allows you to store, analyze and organize a variety of information. Model of database structure «Adventive fraction of flora of Bystrica Basin» developed. Summarized information will form the basis for further research and development of practical control measures.

Розвиток комп'ютерних технологій надає дедалі більше можливостей для оптимізації наукової та дослідницької діяльності. Бази даних (БД) є тими інструментами, які дають змогу зберігати, аналізувати й систематизувати різноманітну інформацію. У даний час існує кілька сотень БД, в яких упорядковано великий обсяг інформації, що значно полегшує її пошук.

Дослідженнями було охоплено територію Бистрицької улоговини, яка належить до складу Передкарпаття в межах Івано-Франківської області. Вона охоплює розширену частину басейну середньої течії ріки Бистриці – правої притоки Дністра. Природними межами Бистрицької улоговини слугують долини річок Бистриці Солотвинської та Ворони. Природний рослинний покрив досліджуваної території зазнав великих змін унаслідок антропогенного впливу. Для території Бистрицької улоговини характерні густа заселеність і високий рівень розораності земель.

Адвентивна фракція флори Бистрицької улоговини до цього часу спеціально не досліджувалась, є тільки поодинокі літературні відомості (Маховська, 2009; Маховська, Неспляк, 2014; Дутка, 2019). Першим етапом у її вивченні є розробка нами макету структури БЗ «Адвентивна фракція флори Бистрицької улоговини» із застосуванням програми Microsoft Office Excel 2016.

Структура БЗ складається з низки таблиць, до яких входить така інформація:

- систематика. Назва виду, роду, родини. Назви видів і їхні автори наведені за «Vascular plants of Ukraine. A nomenclature Checklist» (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999);
- життєві форми (життєві форми за Раункієром, біологічні типи за Серебряковим);
- екологія (геліоморфа, гідроморфа, едафоморфа);
- біологія (період цвітіння, способи поширення діаспор);
- морфологія (плід, насінина, коренева система);
- географія (за Ю. Клеоповим);
- екотопи (за В. Протопоповою);
- ценотопи (за Я. Дідухом);
- характеристика видів за часом занесення;
- характеристика видів за способом занесення;
- характеристика видів за ступенем натуралізації;
- господарське значення;
- довідкова інформація (карти, фотографії рослин, примітки тощо).

База даних призначена для: вивчення складу і структури адвентивної фракції флори Бистрицької улоговини; складання кадастрів адвентивних видів для досліджуваної території; оцінки впливу чужорідних видів; вибору показників для розробки системи прогнозу ймовірних інвазій.

Створення такої бази полегшить процеси накопичення й опрацювання даних. Інформація, узагальнена у БЗ, є основою для подальших досліджень і розробки практичних заходів контролю.

### **Прытула С., Драч Ю., Мамчур З.**

#### **ПОПЕРЕДНІ ДАНІ ПРО СФАГНОВІ МОХИ МАСИВУ ГОРГАН (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79000, Україна  
sergii.prytula08@gmail.com*

**Prytula S., Drach Yu., Mamchur Z. PRELIMINARY DATA ABOUT SPHAGNUM MOSSES OF GORGANY (UKRAINIAN CARPATHIANS).** The territory of Gorgany (Ukrainian Carpathians), unlike Chornohora massif is practically uninvestigated by bryologists, although presence of swamps and wetlands causes a considerable diversity of the biota, including the Sphagnaceae family. So for further investigation preliminary data on the species composition, distribution and ecological features of the most common sphagnum mosses in this area.

Територія Горган (Українські Карпати), на відміну від Черногірського масиву, майже не досліджена бріологами, хоч наявність заболочених і вологих місць зумовлює значне видове різноманіття бріофлори, зокрема, й родини Sphagnaceae. Тому для подальших досліджень було встановлено попередні дані про видовий склад, поширення й екологічні особливості найпоширеніших сфагнових мохів цієї території.

Гірський масив Горгани лежить на території областей Закарпатської (Міжгірський і Тячівський райони) та Івано-Франківської (Долинський, Богородчанський, Надвірнянський і Рожнятівський райони). Серед територіально великого масиву Горган найбільш дослідженою є територія Природного заповідника «Горгани» (Клімук Ю.В., Міскевич У.Д., Якушенко Д.М. та ін. Природний заповідник «Горгани». Рослинний світ, 2006), який розташований у Надвірнянському районі, займаючи 36 % території. Монографія містить 11 видів роду *Sphagnum* із детальним місцезнаходженням на території заповідника. У роботах Д. Зерова, Л. Партики «Мохоподібні Українських Карпат» (1975) та Д. Зерова «Флора печіночних і сфагнових мохів України» (1964) зазначаються території досліджень: Рожнятівський і Богородчанський райони та значною мірою Тячівський район, особливо багато видів було описано для селища міського типу Усть Чорна та НПП «Синевир». Аналізуючи ці дані, можна простежити, що більшість території не є дослідженою, а описані види були вибірково зібрані по найбільших популярних туристичних маршрутах.

Загалом, на підставі опрацювання літературних даних бріологів Д. Зерова (1964), Л. Партики (1975), С. Нипорко (2006), а також матеріалів Гербарію LWS і власних зборів складено список із 21 виду: *Sphagnum girgensohnii* Russow, *S. russowii* Warnst., *S. capillifolium* (Ehrh.) Hedw., *S. quinquefarium* (Braithw.) Warnst., *S. fuscum* (Schimp.) Klinggr., *S. squarrosum* Crome., *S. obtusum* Warnst., *S. flexuosum* Dozy et Molk., *S. angustifolium* (C.Jensen ex. Russow) C.Jensen., *S. palustre* L., *S. magellanicum* Brid., *S. rubellum* Wils., *S. subnitens* Russow et Warnst., *S. teres* (Schimp.) Ångstr., *S. majus* (Russow) C.Jensen, *S. fallax* (Klinggr.) Klinggr. (var. recurvum), *S. cuspidatum* Ehrh. ex Hoffm., *S. tenellum* (Brid.) Pers. ex Brid., *S. subsecundum* Nees, *S. centrale* C. Jensen та *S. riparium* Ångstr. Найпоширенішими видами на цій території є *S. capillifolium*, *S. girgensohnii*, *S. quinquefarium*.

Опрацьовано і матеріали власних польових зборів на території г. Ігровець і г. Висока (Богородчанський р-н, Івано-Франківська обл.), де відібрано 29 зразків і встановлено 5 видів сфагнових мохів: *S. girgensohnii*, *S. russowii*, *S. capillifolium*, *S. quinquefarium* і *S. flexuosum*.

У списку сфагнів є два види, включені до Червоної книги України (2009): *S. subnitens* (зазначений як зникаючий) та *S. tenellum* (як вразливий). Причиною зникання цих видів є осушення боліт, торфозбір та інші меліоративні роботи. Також, за даними Бойка (2010), регіонально рідкісним видом Українських Карпат є *S. riparium*.

За екологічними характеристиками найпоширеніші види є гемісціофітами або субгеліофітами, холодотолерантними, гігрофітами або гігромезофітами, ацидофілами. Це зумовлено специфічними гірськими природними умовами, до яких пристосувалися сфагні. Окрім попереднього списку сфагнових мохів масиву Горгани, створено також картосхему місць їхнього поширення, що деталізує дослідження на цій території.

### **Ревкевич І., Драч Ю., Мамчур З.**

#### **ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У КЛІТИНАХ МОХУ *PLAGIOMNIUM UNDULATUM* (HEDW.) T.J.KOP. ЗА УМОВ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
вул. Сакаганського, 1, м. Львів, 79000, Україна  
revkevychiv@gmail.com

**Revkevych I., Drach Yu., Mamchur Z.** THE CONTENT OF PHOTOSYNTETIC PIGMENTS IN CELLS OF *PLAGIOMNIUM UNDULATUM* (HEDW.) T. J. KOP. IN CONDITIONS OF OIL POLLUTION. Changes in the content of photosynthetic pigments in moss cells of *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T. J. Kop on the territory of the Borislavsky oil and gas condensate field are investigated. It is observed that the content of photosynthetic pigments decreases with the growth on oil-contaminated soils. The seasonal content of pigments in *P. undulatum* moss cells was demonstrated.

Фотосинтетичний апарат рослин є чутливим до дії нафтового забруднення. Токсичний вплив нафти на рослинні організми проявляється двома шляхами: безпосередньо – внаслідок проникнення компонентів нафти через кореневу систему або продихи листків і включення їх у метаболізм, або опосередковано – через зміни фізико-хімічного складу ґрунту і порушення його біологічних властивостей (Терек, 2018). Оскільки мохоподібні поглинають вологу всім вегетативним тілом (через клітини), важливо дослідити, чи є безпосередній вплив нафтового забруднення на життєдіяльність цих організмів.

Дослідження проводили на промисловому майданчику нафтозбірного пункту «Міріам» ЦВНГ-1 НГВУ «Бориславнафтогаз», розташованому на південно-західній околиці м. Борислав по вул. С. Бандери. Матеріал дослідження було відібрано на ділянці території двох діючих (№ 1309 і № 1272) та недіючої (№ 1306) нафтових свердловин, на відстані 10 і 15 м з однаковим рівнем освітлення і вологості. Вміст фотосинтетичних пігментів у гаметофітах моху визначали у свіжозібраному рослинному матеріалі, вимірюючи оптичну густину щодо 96 %-го спирту за довжини хвиль 440; 649; 665 нм, і обчислювали за відповідними формулами щодо сирової маси рослини (Мусієнко, Паршикова, 2001).



Встановлено, що вміст пігментів фотосинтезу залежав від місцезростання мохів, а саме - віддалі від свердловини. Спостерігається тенденція до зниження вмісту хлорофілів (у 1,1 разу) і каротиноїдів (у 1,3 разу) у гаметофітах *Plagiomnium undulatum* на відстані 10 м, порівняно зі зразками, зібраними на відстані 15 м. Найнижчий вміст фотосинтетичних пігментів встановлено для зразка *P. undulatum*, який росте біля свердловини № 1272 (1,02 мг/г сирової маси речовини для хлорофілів і 0,15 мг/г сирової маси речовини для каротиноїдів). Для даного зразка встановлено також найвище значення співвідношення кількості хлорофілів до каротиноїдів (X/K) - воно сягає значення 6,8.

Дослідження вмісту фотосинтетичних пігментів у гаметофітах *Plagiomnium undulatum* проводили тричі протягом року. Встановлено, що за певний проміжок часу у моху *P. undulatum*, який росте на нафтозабрудненому ґрунті, відбуваються значні зміни у пігментному комплексі. Вміст хлорофілу *a* змінювався в межах 0,88–1,47 мг/г сирової маси речовини, а хлорофілу *b* – 0,35–1,09 мг/г. Загальний вміст хлорофілів *a* і *b* пігментів змінювався в межах 1,24–2,56 мг/г, каротиноїдів – 0,26–0,42 мг/г. Вміст хлорофілу *a* переважав вміст хлорофілу *b* в 1,35–2,47 разу. Навесні (30.03.2019), коли рослини *P. undulatum* тільки починали інтенсивно рости й розвиватися, вміст зелених пігментів у них був найнижчим. Збільшення вмісту і співвідношення пігментів встановлено в літній період (25.06.2019). В осінній період (26.10.2019) зафіксовано найвищий вміст пігментів фотосинтезу. Можливо, це було проявом компенсаційних механізмів, спрямованих на відновлення фотосинтетичної функції після спекотного літнього періоду, коли висока сонячна радіація спричиняє деструкцію хлорофілу.

Загалом, вміст фотосинтетичних пігментів у гаметофітах *P. undulatum* є досить низьким. За літературними джерелами (Tieszen, 1968), вміст хлорофілу у цього виду може становити 7,21 мг/г сирової маси речовини для хлорофілу *a* та 2,62 мг/г маси сирової речовини для хлорофілу *b*. Їхнє співвідношення *a:b* дорівнює 2,75 мг/г маси сирової речовини.

Порівнявши отримані результати досліджень із літературними даними, можна вказати на певні тенденції у зміні вмісту пігментів у клітинах моху *P. undulatum* залежно від різних умов зростання дернин. Важливим є продовжувати ці дослідження для з'ясування механізму впливу на нього нафтового забруднення.

#### **Рогозіна І., Верхоляк Н., Перетятко Т.**

### **ВПЛИВ КУПРУМ (II) СУЛЬФАТУ І КАДМІЙ СУЛЬФАТУ НА СУЛЬФІДОГЕННУ АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ *DESULFOTOMACULUM* AR1 ТА *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* YA-11 ЗА ВИКОРИСТАННЯ ТОЛУЕНУ І О-КСИЛЕНУ**

Львівський національний університет імені І. Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
iryndaisyl1998@gmail.com

**Rogozina I., Verkholiak N., Peretyatko T.** THE INFLUENCE OF HEAVY METALS ON THE DEGRADATION OF TOLUENE AND O-XYLENE BY SULFATE-REDUCING BACTERIA. Sulfate-reducing bacteria are known for degrading aromatic compounds. Due to human activity the environment is also contaminated by heavy metals. Our aim was to measure the sulfidogenic activity of sulfate-reducing bacteria in the medium with aromatic compounds and heavy metals. As a result, sulfidogenic activity was lower in the medium with heavy metals.

Унаслідок діяльності людини в навколишнє середовище надходять токсичні речовини різної природи, зокрема, й ароматичні сполуки, які мають мутагенний і канцерогенний вплив на живі організми (Jothimani, 2003).

Найбільш поширеними водорозчинними забруднювачами водного і ґрунтового середовищ є сполуки групи БТЕК (бензен, толуен, етилбензен та ізомери ксилену). Більшість забруднених водоносних горизонтів є безкисневими середовищами, внаслідок чого біодеградацію ароматичних сполук здійснюють анаеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми, зокрема, й сульфатвідновлювальні бактерії (Beller, 1997). Крім ароматичних сполук, навколишнє середовище забруднене йонами важких металів.

Метою нашої роботи було дослідити вплив купрум (II) сульфату і кадмій сульфату на сульфідогенну активність бактерій *Desulfotomaculum* ar1 та *D. desulfuricans* Ya-11 за використання толуену і о-ксилену.

Сульфатвідновлювальні бактерії культивували у середовищах Постгейта С з толуеном/о-ксиленом за внесення купрум (II) сульфату і кадмій сульфату в концентрації 1 мМ.

За внесення  $\text{CuSO}_4$  та  $\text{CdSO}_4$  в контрольне середовище з натрій лактатом біомаса бактерій *Desulfotomaculum* AR1 зменшилась удвічі, а біомаса *D. desulfuricans* Ya-11 – утричі. У середовищах з ароматичними сполуками біомаса була на 50 % нижчою, ніж у контролі під час культивування *Desulfotomaculum* AR1 і *D. desulfuricans* Ya-11. За наявності солей важких металів у середовищах із толуеном/о-ксиленом біомаса бактерій обох штамів знизилась удвічі, порівняно з контрольними показниками.

Сульфідогенну активність бактерій *Desulfotomaculum* AR1 та *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 досліджували за зниження концентрації сульфату і зростання вмісту гідроген сульфід у культуральному середовищі.

Спороутворювальні бактерії *Desulfotomaculum* AR1 у контрольному середовищі з натрій лактатом відновили 15 мМ сульфат-йонів, а *D. desulfuricans* Ya-11 – 23 мМ. У середовищі з толуеном/о-ксиленом

ефективність відновлення сульфат-йонів знизилася на 40 % для *Desulfotomaculum* AR1 і на 60 % для *D. desulfuricans* Ya-11. За додавання солей важких металів у середовище з толуеном/*о*-ксиленом сульфідогенна активність *Desulfotomaculum* AR1 та *D. desulfuricans* Ya-11 знизилася на 10 %.

Солі важких металів пригнічують ріст сульфатвідновлювальних бактерій. Наявність у середовищах із толуеном/*о*-ксиленом солей важких металів призводить до зниження ефективності відновлення сульфат-йонів бактеріями *Desulfotomaculum* AR1 та *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11.

**Семак У.**

МОРФОЛОГІЧНА МІНЛИВІСТЬ *ANTHEMIS ARVENSIS* L.  
НА ТЕРИТОРІЇ ЗОЛОШЛАКОВІДВАЛІВ БУРШТИНСЬКОЇ ТЕС  
ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»  
вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна  
ulianasemak@gmail.com

**Semak U.** THE MORPHOLOGICAL VARIABILITY OF *ANTHEMIS ARVENSIS* L. ON THE TERRITORY OF THE ASH-AND-SLAG DUMPS BURSHTYN TPP. The morphological variability of *Anthemis arvensis* L. during growth on ash-and-slag dumps of Burshtyn TPP was investigated. The morphological modifications of *Anthemis arvensis* L. in the conditions of anthropogenically transformed environment are noted and manifested as an increase in the variability of morphological parameters. The most sensitive part was the generative sphere of the plant, the morphological parameters of which are characterized by high rates of variability.

Рослини зазнають морфологічних перебудов, зростаючи в умовах постійного впливу факторів техногенно трансформованого середовища. Морфологічні модифікації рослинних організмів супроводжуються зростанням або, навпаки, зниженням морфологічної мінливості окремих частин і органів (Глухов, 2008; Хархота, 2013). Оцінити рівень мінливості морфологічних ознак можна через показник коефіцієнта варіації, підвищення якого спостерігається у стресових умовах (Агурова, 2014). Рівень морфологічної мінливості не тільки є діагностичним маркером життєвості рослин, але може слугувати також індикатором стану середовища в умовах промислового забруднення (Агурова, 2014; Глухов, 2008).

Вивчення морфологічної варіабельності *Anthemis arvensis* L. в умовах техногенно трансформованих екоотопів золошлаковідвалів Бурштинської ТЕС, що є територією накопичення небезпечних поллютантів, дасть змогу відобразити рівень антропопресії в даних умовах (Миленька, 2009; Неспляк, 2011).

Збір рослин проводили на діючому золошлаковідвалі № 3 Бурштинської ТЕС і на території мінімізованого антропогенного навантаження (Галицький національний природний парк). Вибірка для обох моніторингових точок становила 30 особин. Вимірювання здійснювали методами лінійної морфометрії, а біометричний аналіз даних - методами математичної статистики. Мінливість морфопараметрів оцінювали за шкалою:  $V < 10\%$  – варіація незначна;  $10 < V < 20\%$  – варіація середня;  $V > 20\%$  – варіація значна.

На території золошлаковідвалів спостерігаються високі та середні рівні морфологічної мінливості досліджуваних ознак. Найбільш варіабельними морфопараметрами є ознаки генеративної сфери: кількість флоральних одиниць і кількість трубчастих квіток – коефіцієнти варіації за даними ознаками становлять 32 % і 30 % відповідно. На фоновій території дані ознаки виявляють середні рівні варіабельності (18-19 %). Показник довжини синфлоресценції на обох територіях виявляє високі рівні мінливості – 27 % і 23 % відповідно. Інші генеративні ознаки: кількість язичкових квіток, діаметр суцвіття і діаметр обгортки є середньоваріабельними.

Щодо вегетативної сфери рослини, то високий показник коефіцієнта варіації в умовах антропопресії характерний для кількості листків (26 %), довжини (26 %) та ширини листків (25 %), а також для довжини стебла (23 %).

Отже, в умовах техногенно трансформованого середовища *Anthemis arvensis* L. зазнає морфологічних модифікацій, що супроводжуються зростанням мінливості морфологічних показників.

**Серков Е., Горюнова І., Мегалінська А., Даниленко Є.**

ГЕНОТОКСИЧНИЙ І ЦИТОТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ ВАНАДІЮ ТА ЦИНКУ  
НА *A. CEPA* І *A. THALIANA*

Національний педагогічний університет ім. М. П. Драгоманова  
вул. Пирогова, 9, м. Київ, 10130, Україна  
anna.megalin@ukr.net

**Serkov E., Horunova I., Megalinska A., Danylenko E.** GENOTOXIC AND CYTOTOXIC INFLUENCE OF VANADIUM AND ZINC ON *A. CEPA* AND *A. THALIANA*. The results of genotoxic and cytotoxic effect of  $V^{+4}$  and  $Zn^{+2}$  on *A. Cepa* and *A. Thaliana* are shown. After onion sprouting in  $V(NO_3)_4$  and  $Zn(NO_3)_2$  at concentrations of 1, 10, 20, 50  $\mu M$  next results are shown: decrease in mitotic index by 43 % and increase in the frequency of chromosomal aberrations by 48 % relative to control (1-2 %) for Vanadium and no mayor effect after processing with Zinc. After processing *A. Thaliana* roots in solutions of Vanadium salts with a concentrations of 1, 10, 20, 50  $\mu M$  the inhibition of growth and darkening of the roots are shown. After processing roots in solutions of Zinc salts with same concentrations the acceleration of root growth and slight darkening of the roots are showed.

Проблема забруднення ґрунтів токсичними металами - одна з найгостріших проблем сьогодення, яка негативно впливає на ріст і морфогенез рослин, а також на здоров'я людей і тварин, що споживають рослини, вирощені на забруднених ґрунтах. З'ясування токсичності впливу важких металів на рослини, а також на клітинні й молекулярні механізми, що лежать в основі процесів росту і морфогенезу, може слугувати підґрунтям для розвитку ефективних стратегій боротьби з негативними наслідками забруднення ґрунтів.

Ванадій є мікроелементом і накопичується майже у всіх дикоростучих і культурних рослинах. За культивування *Allium cepa* L. за наявності  $V_2O_5$  ванадій (V) накопичується в кореневій системі, особливо в клітинах меристеми, що призводить до збільшення частоти хромосомних аберацій (Marcano, 2006). Описано інгібування збірки мікротрубочок і активна деполімеризація тубуліну *in vitro* під впливом 0,001-0,01 мкм  $V_2O_5$  (Ramirezetal, 1997). У взаємодіє як з G-актином, окислюючи залишки цистеїну, так і з F-актином, зв'язуючись *in vitro* з АТФ-сайтами (Ramosetal, 2012). Детальніше особливості впливу ванадію на рослинні клітини ще не з'ясовані, а отже, потребують подальших досліджень.

Цинк належить до есенціальних металів і дуже поширений у земній корі (Исидоров, 1999). Фітотоксичність цинку багато дослідників вважають незначною. Цинк значною мірою впливає на обмін речовин: є коферментом багатьох ферментів, активізує роботу 13 металоферментних комплексів, впливає на синтез білків і ауксину та сприяє повному використанню  $CO_2$  у процесі фотосинтезу (Алексеенко, 2012). Але за збільшеною концентрації у ґрунті цинку спостерігається зниження інтенсивності росту рослин, а також хлороз (Кабата Пендіас, 1989). Вплив малих концентрацій цинку недостатньо досліджений, тому подальші дослідження є досить актуальними.

Мета цього дослідження – вивчити вплив малих концентрацій Ванадію і Цинку, які нижчі або близькі до значення ГДК цих металів, на ділення рослинних клітин, виникнення хромосомних аберацій і ріст рослин. У дослідженні застосували такі методи: Allium-тест, світлова мікроскопія, статистичний аналіз, дисперсійний аналіз.

Ми з'ясували, що такі концентрації Ванадію є надто гено- і цитотоксичними для організму рослини. Про це свідчить значне зниження мітотичного індексу (на 43 %), підвищення частоти (на 48 %) виникнення хромосомних аберацій (найчастіше траплялися к-мітози, поліплоїдія, хромосомні мости тощо), інгібування росту коренів за обробки рослин розчинами солей Ванадію. Можна висунути припущення, що такі результати впливають із впливу Ванадію на структуру ДНК і ферментів, які беруть участь у клітинному діленні. Цинк є менш токсичним металом, ніж Ванадій: він не дав практично жодних негативних ефектів на досліджувані процеси в організмах рослин, а у дослідженні *A.thaliana* корінці, які пророщували в Цинку, мали більший приріст порівняно з контролем.

На нашу думку, варто переглянути ГДК Ванадію у ґрунті, щоб розробити стратегії для вирощування рослин без негативного впливу на здоров'я споживачів - людей і тварин.

#### **Телегій Л., Цвілінюк О.**

#### **ВОДОУТРИМУЮЧА ЗДАТНІСТЬ ЛИСТКІВ МОРКВИ ПОСІВНОЇ (*DAUCUS CAROTA* L.) ТА БУРЯКА СТОЛОВОГО (*BETA VULGARIS* L.) ЗА ДІЇ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ**

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
lilyatelehiy@gmail.com

**Telehi L., Tsvilyniuk O.** WATER RETENTION CAPACITY OF LEAVES *DAUCUS CAROTA* L. AND *BETA VULGARIS* L. UNDER THE ACTION OF SALICYLIC ACID. One of the important environmental problems of the XXI century is a global warming that results in an increase in arid areas in Ukraine. The main reason is that the rain is less frequent and often shower. This leads to an increase in the intensity and frequency of drought. Many ways have been developed to prevent damage from water shortages in cultivated plants. Salicylic acid, a phytohormone of the phenolic nature, is an inducer of resistance to stress factors such as drought, osmotic stress, high and low temperatures, toxic metals.

Однією з важливих екологічних проблем XXI ст. є глобальне потепління, наслідком якого є зростання площ посушливих територій в Україні. Основна причина в тому, що дощі випадають рідше та часто мають зливовий характер. Тобто змінилася не так кількість опадів, як їхній характер. Вода від зливових дощів фізично не може бути поглинута орним шаром і стікає, посилюючи ерозію ґрунту (Писаренко, 2019). Тому найважливішим завданням для науковців є пошук підходів і методів підвищення посухостійкості сільськогосподарських культур. Один із них – екзогенна обробка насіння фізіологічно активними речовинами перед посівом. На низці рослинних об'єктів доведено, що екзогенна саліцилова кислота (СК), фітогормон фенольної природи, є індуктором стійкості до таких стресових чинників, як посуха, сольовий і осмотичний стреси, висока та низька температури, токсичні метали (Khodary, 2004).

Об'єктами дослідження були морква посівна (*Daucus carota* L.) сорту Шантане Сквирська, буряк столовий (*Beta vulgaris* L.) сорту Єгипетський плоский, буряк столовий (*B. vulgaris* L.) сорту Детройт. Передпосівну обробку насіння проводили розчинами СК в концентраціях  $1 \times 10^{-5}$  М,  $5 \times 10^{-5}$  М та  $1 \times 10^{-4}$  М, а також дистильованою водою (контроль). Рослини вирощували у відкритому ґрунті. Польові досліді закладали на чорноземі типовому малогумусному. Висівання культур відбувалося на початку 3-ї декади березня (21.03.2019 р.). Водотримуючу здатність листків досліджуваних рослин визначали ваговим методом за І.Григорюком та ін. (2002) через 1, 2,

3, 24 год від початку закладання досліду (18 травня, 5 червня, 21 серпня). Максимальні температури в ці дні становили відповідно 22,1 °С, 23,8 °С, 29,5 °С, середня вологість повітря – 85, 83, 60 %. Кількість опадів для цих місяців становила 105 мм, 75 мм, 12 мм відповідно.

Водоутримуюча здатність листків моркви посівної у першій часовій точці досліду (після дощового періоду) за дії СК не змінилася щодо контролю. А після періоду посухи найвищу водоутримуючу здатність мали листки рослин, вирощені за дії СК у концентрації  $5 \times 10^{-5}$  М. У буряка столового обох сортів результати є більш стабільними, незалежно від кліматичних чинників. Так, у буряка сорту Детройт найменшу вологовтрату мали листки за дії СК у концентрації  $1 \times 10^{-4}$  М, а також із певною меншою ефективністю  $1 \times 10^{-5}$  М. У буряка сорту Єгипетський плоский найкращі показники водоутримання листками мали рослини, насіння яких було оброблене СК у концентрації  $1 \times 10^{-5}$  М.

**Химин О.**

### БІОЛОГІЧНІ ІНВАЗІЇ ТА ЇХНІЙ ВПЛИВ НА БІОРІЗНОМАНІТТЯ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
olha.khymyn@lnu.edu.ua*

**Khymyn O. BIOLOGICAL INVASIONS AND THEIR IMPACT ON BIODIVERSITY.** Generalization of biological invasion studies, which is recognized as one of the main drivers of biodiversity decline, which in general has a negative impact on ecosystem life. Determining the importance of conducting such studies and using their results in solving the main problem of the present - the uncontrolled introduction of native species due to the rapid development of anthropogenic activity.

Антропогенний вплив з кожним днем дедалі сильніше змінює екосистеми. Тому внаслідок стрімкого розвитку промисловості, сільського господарства, економіки, технічного й енергетичного прогресу змінилися межі біогеографічних областей. Одним із основних факторів трансформації природних екосистем визнано інвазії адвентивних видів (Алимов, 2004).

Біологічні інвазії - це свідоме чи несвідоме перенесення живих організмів у місцевість, для якої цей вид не був характерний (Реймерс, 1988). Це фактично вторгнення чужорідного виду у певний біоценоз. Унаслідок цього відбувається зменшення видового різноманіття за рахунок прямого знищення аборигенних видів або їхнього пригнічення (Heywood, 1989; Lodge, 1993)

Інтродуковані людиною види становлять основну загрозу біорізноманіттю на всій планеті. Саме тому багато досліджень тепер спрямовані на вивчення біологічних інвазій, їхнього впливу на екосистеми. У Конвенції ООН «Про біорізноманіття» (1992) поняття «інвазійні чужорідні види» визначено як такі, що загрожують екосистемам, оселищам, угрупованням або видам, вона закликає до запобігання інвазіям, до контролю або знищення чужорідних видів (Івашенко, 2014).

Впроваджена Всеєвропейська стратегія біорізноманіття ґрунтується на тому, що інтродукція чужорідних видів потенційно може викликати зміни в екосистемах і втрату їхньої стійкості, а це призведе до серйозної шкоди економіці та здоров'ю населення.

За останні роки дослідження впливу інвазійних видів організмів на природні екосистеми в Україні значно активізувалися. Вивчення інвазійних видів та їхній вплив на біорізноманіття природоохоронних територій дасть можливість впровадити Глобальну стратегію охорони автохтонних видів в Україні (Зав'ялова, 2017).

Станом на 2018 рік в Україні зареєстровано 95 інвазійних видів рослин. Багато з них активно натуралізуються й успішно конкурують із корінними мешканцями, іноді гібридизують і витісняють їх, суттєво змінюючи структуру ценозів (Малиновський, 2018).

На основі аналізу відомих нам досліджень можна зробити висновок, що сьогодні немає універсального методу, аби зупинити поширення інвазійних видів, проте постійний моніторинг їхніх популяцій дасть змогу поступово взяти цей процес під контроль.

Серед основних завдань, які стоять перед спеціалістами, можна виділити такі:

1. виявити факти аборигенності й чужорідності видів на певній території;
2. оцінити вплив екологічних чинників на такі види;
3. виявити лімітуючі та стимулюючі чинники їхнього росту і швидкого розмноження;
4. визначити резистентність алохтонних видів до забруднень;
5. дослідити життєві стратегії інвазійних видів організмів, які сприяють їхньому масовому розвитку.

**Штик О., Мамчур З., Царик Й.**

### МИШОПОДІБНІ ГРИЗУНИ ТЕРНОПІЛЬЩИНИ У ФОНДАХ ДЕРЖАВНОГО ПРИРОДОЗНАВЧОГО МУЗЕЮ НАН УКРАЇНИ

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
olya1235@ukr.net*

**Shtyk O., Mamchur Z., Tsaryk Yo. MUROID RODENTS OF TERNOPIL REGION IN THE COLLECTIONS  
THE STATE MUSEUM OF NATURAL HISTORY, NAS OF UKRAINE.** In scientific collections of the State museum

of Natural History, NAS of Ukraine are preserved 252 samples, twelve species of muroid rodents. They were collected from 2 part of the XIX century till 60-th of XX century. The main collectors were Rudyshyn M., Tatorynov K., Polushyna N. and Opalatenko L.

Територія Тернопільщини багата на різноманітні ландшафти, а отже, для області характерне значне біорозмаїття, в тому числі й серед мікромамалій, і ця територія цікавила дослідників упродовж століть. Важливе місце у дослідженні зоорізноманіття посідають фонди зоологічних музеїв, особливо Державного природознавчого музею НАН України (м. Львів).

Мета роботи - дослідити різноманіття мишоподібних гризунів Тернопільщини, які наявні у фондах ДПМ НАНУ. Для цього ми опрацювали інвентарні книги ссавців (1969 р.). У них наведено дані про морфологію, час, місце збору й ім'я колектора. Більшість зоологічного матеріалу (тушки, опудала, черепи), представленого в опрацьованих книгах, була зібрана починаючи з 2 пол. XIX ст. і до 60-х років XX ст. включно.

Щодо території збору, то найбільше знахідок є із восьми областей України (Київська, Львівська, Тернопільська, Закарпатська, Івано-Франківська, Чернівецька, Рівненська, Волинська), АР Крим, Польщі, Білорусі та Росії. Траплялися, звісно, знахідки й з інших територій (Румунія, Литва, Казахстан та ін.), проте їхня кількість була дуже малою, і ми не подавали їх у загальний список. Кількість колекторів, які уклали теріологічні фонди ДПМ НАН України, налічує близько десятка науковців, проте основними колекторами, завдяки яким була зібрана більша частина зоологічного матеріалу, описаного в інвентарних книгах, є: М. П. Рудишин (близько півтори тисячі зразків), К. А. Татаринів, Н. А. Полушина і Л. К. Опалатенко

Загалом ми опрацювали 3769 зразків, які належали 22 видам мишоподібних гризунів, відібраних із вищезазначених територій. У дослідженні подаємо детальну інформацію про видовий склад цієї групи тварин. У межах Тернопільської області тут зібрано 252 екземпляри 12 видів, що становить 6,68 % від загальної кількості.

Найбільшу кількість зразків становили представники таких видів: мишак жовтогрудий *Sylvaemus tauricus* Melchior. (56 екз.), щур водяний *Arvicola amphibius* L. (51 екз.), ховрах крапчастий *Spermophilus suslicus* Guldenstadt (47 екз.), миша хатня *Mus musculus* L. (44 екз.), полівка польова *Microtus arvalis* Pall. (19 екз.), миша польова *Apodemus agrarius* Pall. (11 екз.), нориця руда *Myodes glareolus* Schr. (7 екз.), мишак лісовий *Sylvaemus sylvaticus* L., (7 екз.), хом'як звичайний *Cricetus cricetus* L. (6 екз.), пацюк мандрівний *Ratus norvegicus* Berk. (2 екз.), ховрах європейський *Spermophilus citellus* L. (1 екз.) і сліпачок степовий *Ellobius talpinus* Pall. (1 екз.).

Підсумовуючи результати, отримані в ході опрацювання інвентарних книг ДПМ НАН України, можна зауважити, що протягом вищезазначеного періоду інтенсивних зборів зоологічного матеріалу в Західній Україні та, зокрема, в межах Тернопільщини виявлено види, які тепер на території області не трапляються (*Spermophilus citellus*, *Spermophilus suslicus* і *Ellobius talpinus*). Та є види, які на сьогоднішній день цілком звичні для дослідженої території, але не були тут виявлені раніше: *Micromys minutus* та *Microtus agrestis*.

#### Dubovyk O.

#### PATTERNS OF DIVERSITY – SAMPLE SIZE RELATIONSHIP ON THE EXAMPLE OF WINTER BIRD COMMUNITY IN THE “ROZTOCHYA” NATURE RESERVE

Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine

“Roztochya” Nature Reserve

7, Sichovykh Striltsiv St., Ivano-Frankove, Lviv Region, 81070, Ukraine

oadubovyk@gmail.com

Several different features can characterize an ecological community, such as species composition, species richness, abundances and frequencies of species etc. (Bobyliov et al., 2014). One more parameter of community is diversity level, which means, despite the fact that the term of diversity is commonly used as a variety of living forms (Convention on Biological Diversity, 1992), the variety and abundance of species in a defined unit of study (Pielou, 1975; Magurran, 2004). It can be estimated via a long list of indices, such as Simpson, Shannon etc. (Legendre & Legendre, 1998; Magurran, 2004; Harper, 1999).

Because of the integrative nature of those indices they are not related linearly with a sample size (Kwiatkowska & Symonides, 1986; Meltzer et al., 1992). This fact makes communities comparisons based on their diversity levels complicated and, sometimes, inadequate, especially when the sample units sizes are different. The question of possible adjustment of diversity level based on the sample size (i.e. amount of volume or area where the community structure data was derived from) requires more data about the distribution of community parameters.

The bird community was studied in this work. Data concerning its structure was collected on 6.5 km transect in Stavky forest zone of the “Roztochya” Nature Reserve during the winter of 2019-2020. The transect was divided into 65 fragments with a length of 100 m. In result, 23 bird species was registered. The Marsh Tit *Poecile palustris* (18.6%), the Nuthatch *Sitta europaea* (14.8%), the Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major* (12.5%) and the Crested Tit *Lophophanes cristatus* (11.4%) are the most numerous species.

Parameters – sample size relationship can be estimated in the three main ways. The first is to build accumulation curves for parameters (species number, total individuals number and indices described above) using the “raw” dataset:

it is slightly inadequate because of the habitat heterogeneity throughout the transect. There are two ways to fix this situation: on the one hand, a model of random spatial distribution of individuals can be created based on the received data; on the other hand, mean values of parameters can be estimated for combinations of fragments with a certain lengths.

For the “raw” data, total individuals number does not relate straightly with a transect length: residuals median in the linear model with total individuals number as a dependent variable equals 2.34 (still, the correlation is visible, Pearson’s  $r=0.958$ ,  $p<0.005$ ). Species number cumulative curve tends to linearity (which was not thought to happen too): residuals median is 0.047,  $r=0.959$  ( $p<0.005$ ). Simpson diversity index starts from 0.840 for  $l=100$  m and increases to  $0.899\pm 0.001$  SD for  $l\in[1500, 5000]$  m. Shannon diversity index starts from 1.885 and increases to  $2.551\pm 0.009$  for  $l\in[4500, 6500]$  m.

However, averaged by transect lengths mixed samples visually are more similar to the modeled results. Species number can be estimated as  $S=\log_2(l)\cdot 3.462$  in described model of community, and a LM with  $2^{S/3.462}$  as a dependent variable shows  $R^2=0.944$ ,  $R^2_{adj}=0.944$  (vs  $R^2=0.805$  for not transformed S). Averaged Simpson indices for track length are  $1-D_{l=300}=0.626\pm 0.291$ ,  $1-D_{l=600}^{adj}=0.802\pm 0.105$ ,  $1-D_{l=900}=0.844\pm 0.051$  and go to plateau of  $1-D\rightarrow 0.9$  from  $l=1800$  m. Averaged Shannon indices don’t show so abrupt transition and equal  $H_{l=300}=1.285\pm 0.698$ ,  $H_{l=600}=1.828\pm 0.400$  and go to plateau of  $H\rightarrow 2.5$  from  $l=3900$  m (Shannon index theoretical maximum for  $S=23$  is  $H=3.136$ ).

More data about species abundances distribution is required for subsequent researches, especially for those concerning the probabilities of new species registrations per unit of study.

**Horyn O.<sup>1</sup>, Osypenko I.<sup>1</sup>, Poznanskiy D.<sup>1</sup>, Kasianchuk N.<sup>2</sup>, Rzymiski P.<sup>3</sup>, Falfushynska H.<sup>1</sup>**  
**BIOHAZARD IDENTIFICATION AND RISK ASSESSMENT OF CYANOTOXINS BASED**  
**ON THE SET OF MOLECULAR MARKERS OF EUROPEAN CARP**

<sup>1</sup> Volodymyr Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University

<sup>2</sup> National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”

<sup>3</sup> Department of Environmental Medicine, Poznan University of Medical Sciences  
 horynoi@tntpu.edu.ua

Fish are considered to be a good tool for water quality assessment and an example of compliance and diagnostic indicators for evaluation of ecological integrity. Since the response of fish to toxic substances is often similar to that of other higher vertebrates, they prove to be useful bioindicators in the screening of chemicals potentially capable of inducing an adverse effect in humans (Falfushynska et al., 2019; Strungaru et al., 2019). The aim of the present study was to estimate the *in vitro* model based on isolated *Cyprinus carpio* cells as a reliable and sensitive tool for water quality assessment and evaluation of the potential threats caused by cyanobacteria toxins.

The potential toxicity of cyanobacterial extracts was evaluated in common carp isolated hepatocytes and red blood cells, and brain homogenate. Carp hepatocytes ( $10^7$  cells per mL) were exposed for 24h to tested compound (0.1–1% cell-free extracts of *Raphidiopsis raciborskii* strains, and synthetic analogs of cylindrospermopsin). Following the exposure, the set of biochemical markers was determined. Based on our previous results, it included traits of oxidative stress (catalase, reactive oxygen species, glutathione, TBA-reactive substances, protein carbonyls), biotransformation processes (glutathione-S-transferase, P450 cytochrome dependent reductase), markers of cytotoxicity (lactate dehydrogenase, cholin esterase, caspase 3, cathepsin D, lysosomal membrane stability) and genotoxicity (DNA strand break, micronuclei test) to display the effects of a broad spectrum of toxic chemicals and/or environmental conditions.

The results of this study clearly suggest that despite morphological similarities and no production of known toxins, *R. raciborskii* strains occurring in Central Europe namely Poland and West Ukraine may reveal toxicities to freshwater fish and vary in the magnitude of exerted effects. The studied extracts of *R. raciborskii* evoked different responses of catalase activity in hepatocytes with both increase and decrease observed under low and high concentrations. The cellular thiol pool was also altered with most extracts inducing a decrease in the activity of glutathione-S-transferase, and Ukrainian strains leading to an increase in glutathione level and a decrease in metallothionein content. All the studied extracts induced comparable reactive oxygen species formation, lipid peroxidation, protein carbonylation and DNA fragmentation in hepatocytes, and all but one increased the activity of caspase-3. Only one extract caused lysosomal membrane destabilization as measured by neutral red retention in RBC. In contrast to extracts of Ukrainian isolates, exposure of brain homogenates to extracts of Polish strains induced an increase in acetylcholinesterase activity suggesting the neurotoxic action of their exudates. The results indicate that both Polish and Ukrainian strains of *R. raciborskii* may pose a toxicological risk to freshwater fish, and further, that Polish strains may produce compound(s) evoking neurotoxic effects.

Moreover, using fish cell model we have estimated toxicity of five synthetic analogues of cylindrospermopsin that possessed a uracil group but contained or lacked a guanidine or hydroxyl group and compare it with response of carp cells to Central Europe *R. raciborskii* strains. All tested analogues induced generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and DNA fragmentation. However, the greatest increase in lipid peroxidation and increase in caspase-3 activity, an apoptosis marker, was demonstrated by an analogue containing a guanidine and hydroxyl group. This work appears to support the hypothesis that cylindrospermopsin toxicity is a result of an interplay between both of these functional groups.

We should bear in mind that even if our study involved different types of cells, the *in vitro* toxicological assessment cannot be extrapolated to *in vivo* without limitations as it does not represent multi cellular level connectivity.

This work has been granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Project #MV-2).

**Jarosiewicz A.**

#### CATCHMENT AREA INFLUENCE ON WATER QUALITY OF LAKE ECOSYSTEMS

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: anna.jarosiewicz@apsl.edu.pl*

Environmental degradation of human life is one of the most important, if not the most important problem of the modern world, and the deterioration of water quality inevitably leads to a limitation of its usefulness, which then becomes a serious global problem. Therefore, it is of paramount importance to understand the mechanisms influencing the water quality.

Nitrogen and phosphorus circulation in water depends on the status of the catchment area and the processes occurring on the border between water and catchment area. Development of agricultural production, urbanization, recreational pressure is the main human activities that can affect water quality. The numerous political, economic and social changes that occurred in the late 1980s in Poland and other Central and Eastern European countries, have had significant impacts on the manner and intensity of the use of natural resources, including water resources. The changes that took place in the Polish economy and municipal sectors undoubtedly had a significant impact on the aquatic environment.

The objective of the research was to determine the long-term changes in Jeleń Lake water quality. The Jeleń Lake lines in northern Poland, in Bytowskie Lake District. It is a deep (max. depth 32 m) dimictic close water body, with summer thermal stratification. Lake is located in a hypsographically diverse moraine landscape and is included in the group of lakes called "lobelian". The prevalent land use of the drainage basin is arable lands and forests. The lake is intensively used by tourism.

Collected monitoring data showed, that the lake water quality was changed over the last 25 years. Between the early 1990s and 2006 progressive eutrophication could be observed, namely a significant decline in the Secchi disk visibility, oxygen deficits in the hypolimnion during the summer stratification and an increase of total phosphorus concentration in the bottom layer. This phenomenon was all the more worrying in that in the 1980s and 1990s, the lake was one of cleanest lakes in Poland, despite its location in the catchment areas of agro-forestry and intensive recreational use (the lake was and is still being used as a recreational facility by the city of Bytów). Research conducted reported that in the 1990s, the lake received nitrogen loads over 4 times the permissible load for this lake (according to Vollenweider criteria) and permissible phosphorus load was more than 2 times. High natural resistance to degradation of the lake (resulting from morphometric and hydrological characteristics) over the years has reduced the impact of the catchment area on the water quality. Internal loading started in the lake in recent years, releasing into the water column phosphorus reserves accumulated during previous years. However, recent studies point to the first symptoms of improvement of water condition has been observed.

**Parzych K.<sup>1</sup>, Parzych A.<sup>2</sup>**

#### CHANGES IN FOREST AREA OF COASTAL COMMUNES OF BALTIC SEA AS A RESULT OF THE IMPACT OF TOURISM AND RECREATIONAL LOADS

*<sup>1</sup>Institute of Geography and Regional Studies, Pomeranian University of Słupsk  
Partyzantów St. 27, 76-200 Słupsk, Poland*

*<sup>2</sup>Institute Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewskiego St. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: agnieszka.parzych@apsl.edu.pl*

The seaside area is one of the most forested in the country. At the same time, forests in the coastal zone are exposed to strong anthropopressure due to the strong concentration of tourism development and tourism.

The study aimed to analyze changes in the forest area availability of the coastal tourist municipalities of the Baltic Sea Coast in connection with the changes in the area of tourism development and tourism in this area. The analysis was made in dynamic terms, taking into account in the years 2000-2016. In this study, as seaside communes, all communes that directly border the Baltic Sea have been taken into account. The statistical data of the Local Data Bank of the Central Statistical Office were used as the source material for the implementation of the research problem addressed: changes in the area of total forests in all coastal communes Baltic Sea Coast in 2000-2016, changes in the area and population of communes, and selected data on the tourist function of coastal communes including data on the number of facilities and beds and the number of tourists visiting the coastal communes of the Baltic Sea Coast between 2000-2016.

In coastal communes, in the years 2000-2016, the forest cover index increased from 23.3 to 24.1%. From the 2000 year forest area per 1 inhabitant increased from 1741 m<sup>2</sup> to 2149 m<sup>2</sup>. The increase in forest area and average forest area per capita occurred mainly in rural communes, large communes with the highest forest cover indicators, in urban communes and communes with a strongly developed tourism function there was an opposite tendency. The increase

in tourism load on forest areas and decrease in the availability of forests for tourists in municipalities and communes with the largest tourist investment (Kołobrzeg, Międzyzdroje, Władysławowo) is noticeable, while the influence of anthropopressure decreases and the availability of communes with lower population and the marginal role of tourism in their socio-economic development (Choczewo, Trzebiatów, Smołdzino, Kamień Pomorski).

**Tkachenko H.<sup>1</sup>, Kurhaluk N.<sup>1</sup>, Kasiyan O.<sup>2</sup>, Yurchenko S.<sup>2</sup>, Kamiński P.<sup>3</sup>**

ARSENIC, CHROME, MANGANESE, AND NICKEL LEVELS IN THE GILLS  
OF SEA TROUT (*SALMO TRUTTA* M. *TRUTTA* L.) FROM THE SOUTHERN BALTIC SEA  
(CENTRAL POMERANIAN REGION, POLAND)

<sup>1</sup>*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

<sup>2</sup>*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine  
Pekarska Str, 69, Lviv, 79010, Ukraine*

<sup>3</sup>*Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Bydgoszcz, Poland*

Heavy metals are elements that occur naturally in the environment. Concentrations of mercury, cadmium, and lead are usually naturally very low and vary between areas of different geological origin. These metals are toxic, even at low concentrations, and have no known beneficial biological effects. Cadmium and lead concentrate in the liver where high levels can cause liver malfunction. Mercury concentrates on muscles. High metal concentrations can damage neurotransmitters and learning capability (mercury, lead) and bones or shell strength (cadmium). According to the integrated assessment, levels of lead in biota and sediment exceed the threshold levels in fish, bivalves and surface sediments in several basins of the Baltic Sea (HELCOM, 2010).

Gills and skin are the first points of contact between waterborne metals and fish (Ahmed et al., 2016). The sensitive respiratory and ion regulatory membranes in the gills are the first target of the metal's adsorption onto the gill's surface for pollutants in water and could also significantly influence the total metal levels of the gills (Playle, 1998; Bebianno et al., 2004). Gills are the first tissues to be exposed to metals and afterward distributed by the blood to important organs such as liver, skin, and muscle where they can exert toxic effects causing metabolic stress situation and oxidative stress damage such as lipid peroxidation and can end up in the kidneys, as the main excretory organ (Barbier et al., 2005; Wepener et al., 2005; Ahmed et al., 2016). As Camusso and co-workers (1995) noted, Cd accumulated mostly in spleen and muscle; Hg in muscle and kidney; Pb in bone, spleen, and kidney; Cr in spleen, muscle, and gills; and Cu in kidney. The highest Zn levels were measured in gills of the rainbow trout. This study aimed to assess the concentration of arsenic (As), chrome (Cr), manganese (Mn), and nickel (Ni) in the gills of the sea trout (*Salmo trutta* m. *trutta* L.) sampled in the Baltic Sea (northern region of Poland). The results were then compared to permissible limits to detect whether the metal contamination levels in sea trout from the Baltic Sea exceed the values of limits admissible.

Frequently consumed sea trout were purchased from local fishermen in January-February 2014, from Ustka town (54°34'43"N 16°52'09" E, a town in the Middle Pomerania region of northwestern Poland). Each of 25 fishes was collected and wrapped to the individual polyethylene bags for transport to the Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk and Department of Medical Biology and Biochemistry, Department of Ecology and Environmental Protection, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Toruń (Poland). Immediately after transportation to the laboratory, samples were washed with fresh water to remove the mud or other fouling substances. Then the gill tissues of each sample were removed and chopped into pieces by steam cleaned stainless steel knife. The gill tissues were then washed with deionized water and air-dried to remove the extra water. Microwave digestion with the use of concentrated nitric acid and hydrogen peroxide was used for the decomposition of the dried animal tissue, which was weighted into reaction vessels. The 8 ml of 69-70% of Baker Instra Analyzed grade nitric acid was added together with 2 ml of 30% Chemical Lab. Analytical grade hydrogen peroxide. Then the samples were microwaved for 5 minutes in 190°C (ramping time 25 min.), then 5 minutes in 200°C (ramping time 5 min.) and finally 5 minutes in 210°C (ramping time 5 min.), to ensure the total decomposition of organic matter. The digested solution was moved to the disposable calibrated tubes and filled up to 50 ml with deionized 0.05 µS/cm water.

Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) technique was used for the quantitative analysis of trace elements. The Agilent 7500ce ICP-MS apparatus is fitted with a micro-mist nebulizer, Peltier cooled double pass spray chamber, a peristaltic pump. Argon 5.0 was (99.999% purity) was used as a carrier gas. Apparatus is also fitted with a torch with a "shield torch" system reducing so-called "secondary discharge", off-axis ion lenses, reaction/collision chamber with hydrogen 6.0 and helium 6.0 (purity 99.9999%) as a reaction/collision gasses for the elimination of interferences. The vacuum system consists of a rotary pump and a turbo-molecular pump. Quadrupole with hyperbolic rods is the mass separator. The detector gives the possibility to work in two modes: digital and analog which gives the possibility to work through nine orders of magnitude. All determinations were made in the presence of <sup>45</sup>Sc, <sup>89</sup>Y, <sup>159</sup>Tb as an internal standard to minimize the matrix effect and ensure long term stability. Statistical analysis of the data obtained was performed by employing the mean ± standard error of the mean (S.E.M.). All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test (p>0.05). All statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft, Poland).



All metal concentrations were determined on a weight basis. Metal contents in fish samples were found 0.00313-0.02069 mg·kg<sup>-1</sup> for As (the mean value was 0.01294±0.0009 mg·kg<sup>-1</sup>), 0.0118-0.02161 mg·kg<sup>-1</sup> for Cr (0.01449±0.0003 mg·kg<sup>-1</sup>), 0.01895-0.14216 mg·kg<sup>-1</sup> for Mn (0.04137±0.0046 mg·kg<sup>-1</sup>), 0.00664-0.01528 mg·kg<sup>-1</sup> for Ni (0.00811±0.00034 mg·kg<sup>-1</sup>). According to these data, the ranking order of the mean concentration of the heavy metals in fish gills was Mn (0.04137 mg·kg<sup>-1</sup>) > As (0.01294 mg·kg<sup>-1</sup>) > Cr (0.01449 mg·kg<sup>-1</sup>) > Ni (0.00811 mg·kg<sup>-1</sup>). The mean concentration of arsenic in gill samples (0.01294±0.0009 mg kg<sup>-1</sup>) was much below the permissible limit of USFDA (1993) and FAO/WHO (1976). The mean Cr content in the gill of sea trout samples was well within the toxic limit of USFDA (1993). The samples had lower Cr concentration as compared to the limits of 0.200 set by FSANZ (2002) and 0.100 by EUROPA (2004). Our study reported that the accumulation of Mn was exceeding the maximum permissible limit (by 8.27-16.55-fold) according to WHO/EPA standard (0.0025-0.005 mg·kg<sup>-1</sup>) (FAO/WHO, 1976). The proposed limit of Ni concentrations in marine fish species as recorded by FAO (1983) is about 10 µg/g and 0.5-0.6 µg/g according to WHO Guidelines for drinking water quality (1985). In general, it can be seen that the concentrations of Ni found in gills of the sea trout in this study are still considered as those of uncontaminated fish. In conclusion, the assessment of element contents in the organs of the sea trout appears to be a useful biomarker to evaluate the toxic effects of heavy metal pollution as well as for human consumption. It is recommended that additional monitoring plans be conducted to determine critical bioaccumulation levels in fish species of the southern Baltic Sea (central Pomeranian region). Our results would also be helpful for the safe consumption of the selected indigenous fish species.

*The authors are grateful to The Polish National Commission for UNESCO for supporting our study.*

**Wieczorek M., Najbar B.**

EXTENSIVENESS AND INTENSITY OF ECTOPARASITIC INFESTATION  
ON SAND LIZARDS (*LACERTA AGILIS*) IN WESTERN POLAND

*University of Zielona Góra, Faculty of Biological Sciences  
1, Prof. Z. Szafran St., 65-516 Zielona Góra, Poland  
rosli@wp.pl*

Ectoparasites are dangerous for lizards, which are characterized by small size and low body weight, and with high levels of infestations, they also have an impact on difficulties in obtaining food and escaping from predators, increasing their mortality (Blanke and Fearnley 2015). In addition, common ticks (*Ixodes ricinus*) are carriers of numerous pathogenic microorganisms, and the resulting wounds during skin puncture heal slowly, due to the secretion of substances that prevent blood coagulation, which facilitates the penetration of pathogens (Bauwens et al. 1983; Siuda 1993; Stanek 2009).

The research was conducted during seasonal activity of sand lizards in 2016-2017, lasting in western Poland from the turn of March and April to October and November. Of the 606 lizards tested, 222 (36.6 %) were found to be parasitized by ticks, in total 1339 individuals, including 914 (68.2 %) larvae, 424 (31.7 %) nymphs and 1 (0.1 %) an adult female. They belonged only to *Ixodes ricinus*, and the largest number, i.e. 778, were obtained from lizards from Żary, 376 from Zielona Góra and 185 from Nowa Sól. 55 ticks once parasitized one of the males from the Żary population. The highest number of ticks found at once in males from Zielona Góra was 46, and from Nowa Sól 15. The females recorded at once: 36 ectoparasites (Żary), 34 (Zielona Góra) and 15 (Nowa Sól).

It was decided to check whether the number of ticks parasitizing on caught lizards depends on the month of measurement, the year of measurement and the locality. A three-factor analysis of variance was performed in the inter-group scheme for all lizards caught (N = 805), including those caught again. Statistically significant differences were noted in the number of ticks parasitizing on lizards between the three sites studied. A higher number of ticks was recorded on lizards from the Żary population compared to the number of ticks on lizards from the Zielona Góra population (p = 0.039) and from Nowa Sól (p < 0.001). These, however, did not differ statistically significantly. Statistical analyzes also showed that the number of ticks obtained from the three lizard populations did not differ between the examined years, but differed between individual months of harvesting.

## ЗООЛОГІЯ / ZOOLOGY

**Андрішин Б., Решетило О., Струс В., Струс Ю., Баландюх Н., Стрянець Г.**

### МІГРАЦІЙНА АКТИВНІСТЬ РОПУХИ СІРОЇ *BUFO BUFO* І ЖАБИ ТРАВ'ЯНОЇ *RANA TEMPORARIA* ЯК КЛЮЧОВИХ ВИДІВ БАТРАХОЦЕНОЗІВ УКРАЇНСЬКОГО РОЗТОЧЧЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
bohdanoksalat@gmail.com

**Andriishyn B., Reshetylo O., Strus V., Strus Y., Balandiukh N., Striamets H.** *MIGRATION ACTIVITY OF COMMON TOAD BUFO BUFO AND COMMON FROG RANA TEMPORARIA AS KEY SPECIES OF AMPHIBIAN COMMUNITIES OF UKRAINIAN ROZTOCHIA.* Seasonal cycle of amphibians has two phases: water and terrestrial phase. Terrestrial phase includes seasonal migrations between breeding, feeding and hibernating sites. We revealed that migration activity of common toad and common frog depends on climatic conditions: air temperature, humidity and precipitation, so, this result confirmed the accepted trends of amphibians migrations. Using frog fences we installed by the model road section, more intensive migration activity of the species was found out compare to dead frog count on the road only.

Станом на сьогодні, такі чинники як глобальна зміна клімату, трансформація та занепад оселищ, інші негативні антропогенні чинники істотно впливають на стан популяцій багатьох видів тварин. Земноводні, будучи організмами, доволі чутливими до змін умов середовища існування, можуть слугувати показовим об'єктом дослідження наслідків таких змін (Писанець, 2007). Сезонний цикл земноводних переважно має дві фази: водну, яка охоплює розмноження та розвиток личинок у водоймах, і наземну, котра слугує для репродуктивних міграцій, пошуку поживи та пошуку місць для зимівлі. Трансформація та фрагментація середовища можуть впливати на етологічні, трофічні, міграційні, а також репродуктивні компоненти сезонного циклу земноводних. Для амфібій, особливо безхвостих, характерна короткодистанційна, або мікрогеографічна міграція (Glandt 1986; Linzey 2001), тому радіус міграцій земноводних є більш обмеженим, ніж у інших хребетних (Sinsch, 1990). Багато видів хвостатих і безхвостих амфібій потребують постійних локалітетів для живлення, розмноження та гібернації, тому суттєво залежать від водойм, які розташовані поблизу.

На нашу думку, важливим є дослідження сезонних особливостей міграційної активності ключових видів (Царик, 2019). До таких видів земноводних маємо підстави віднести ропуху сірої *Bufo bufo* та жабу трав'яну *Rana temporaria*, які є найпоширенішими видами земноводних на Українському Розточчі. Тут вони виконують вагомую роль в екосистемах у силу своїх етологічних і трофічних особливостей. Окрім цього, встановлено, що популяції цих двох видів зазнають негативного впливу у зв'язку з постійним рухом автотранспорту, який відбувається саме на тих ділянках, через які пролягають активні сезонні міграції цих тварин (Решетило, Стах, 2018). Тому важливо дослідити і простежити активність сезонних міграцій ропухи сірої та жаби трав'яної, а також встановити їхню ймовірну залежність від таких чинників як погодні умови (температура повітря, відносна вологість повітря, атмосферний тиск, опади тощо).

Дослідження проводили з весни 2017 до осені 2019 на території ПЗ Розточчя. Збір матеріалу здійснювали двома способами: перший – щотижневий ручний збір і облік розчавлених амфібій на відрізьку дороги Т-1425 загальною протяжністю 2,2 км, яка перетинає міграційні шляхи досліджуваних видів, другий – відлов і облік мігруючих особин за допомогою спеціально встановлених захисних бар'єрів на 100 м відрізьку цієї дороги.

Аналізуючи загибель земноводних протягом сезону активності 2017 р., простежуємо незначну весняну активність обох видів земноводних, яка припала на другу половину травня, натомість, літні міграції виявилися більш масовими (за рахунок переважаючої кількості метаморфів обох видів). Найбільший пік міграцій ропухи сірої спостерігаємо наприкінці вересня – на початку жовтня. Жаба трав'яна в кінці вересня знизила свою активність, проте міграції проводила аж до кінця листопада. Варто зазначити, що обидва види досліджуваних амфібій проявляли міграційну активність переважно після дощів, що цілком узгоджується із загальновідомими уявленнями про міграційну активність земноводних. Відтак, опади і вологість повітря, як показують наші дослідження, відіграють важливу роль для міграційної активності земноводних і, судячи з усього, діють як стимулятор для міграцій.

У 2018 р. було обліковано 879 особин жаби трав'яної і ропухи сірої, 689 особин з яких становила ропуха сіра (78,4 %) і 190 – жаба трав'яна (21,6 %). Ропуха сіра проявила два значні піки міграцій перша половина квітня (більше 140 особин) і кінець серпня – початок листопада, але зі значним тимчасовим спадом у першій половині жовтня. Влітку піку міграцій не спостерігали, більше того, кількість особин протягом літнього сезону була незначною, а іноді міграційна активність зовсім не проявлялася. Жаба трав'яна виявила подібну сезонну тенденцію.

За 2019 рік зареєстровано найменшу кількість земноводних, порівнюючи з 2017 та 2018 роками. Натомість, загальна тенденція міграційних піків і спадів стосовно календарних періодів схожі з 2018 роком. Відтак, спостерігали високу чисельність мігруючих особин на початку весни, низьку, проте стабільну чисельність – протягом червня-липня і незначну чисельність – восени. Проте вже протягом кількох останніх років тривалість

міграцій зростає, і їхнє припинення настає трохи пізніше. Варто зазначити, що, як і попереднього року, було виявлено низьку кількість метаморфів як жаби трав'яної, так і ропухи сірої. Також цього року жаба трав'яна швидше завершила осінні міграції (остання реєстрація особин жаби трав'яної була 9 листопада, а остання реєстрація особин ропухи сірої – 17 листопада). Варто відзначити, що на підставі наших досліджень встановлено найбільш проблемний відрізок (той, де загибель амфібій обох видів проявляється найвідчутніше). Саме на ньому й були встановлені тимчасові захисні бар'єри, які унеможливили рух амфібій через автошлях, не даючи їм гинути під колесами автомобілів. Ця конструкція слугувала нам додатковим засобом обліку мігруючих особин земноводних, як вже було зазначено вище.

Отже, аналізуючи кількість упійманих особин земноводних у відра-пастки, доходимо висновку, що насправді кількість мігруючих земноводних істотно вища від тих, які гинуть під колесами автотранспорту. Наприклад, навесні 2018 р. на всій модельній ділянці дороги протяжністю 2200 м було виявлено 252 розчавлені особини, тоді як на 100 м захисних бар'єрів за цей же період виловили та безпечно перенесли через дорогу 680 особин земноводних. Таким чином, сподіваємося, що виявлені нами основні тенденції щодо міграційної активності ключових видів земноводних на Розточчі спонукатимуть науковців до подальшого дослідження важливих аспектів сезонного циклу земноводних.

**Голуб Ю., Трошин А., Головатюк А.**

ТВЕРДОКРИЛІ КРИВОРІЖЖЯ, ЗАНЕСЕНІ ДО ЧЕРВОНОЇ КНИГИ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

*Криворізький державний педагогічний університет  
просп. Гагаріна, 54, м. Кривий Ріг, 50086, Україна  
golubula2001@gmail.com*

**Golub Y., Troshyn A., Golovatyuk A.** COLEOPTERA OF KRIVYI RIH RECORDED IN THE RED BOOK OF THE DNEPROPETROVSK REGION. The analysis showed that at Kryviy Rih were found 29 species of Coleoptera, which are included in the Red Book of Dnipropetrovsk Region. This list includes 19 species of Carabidae, three species of Cerambycidae, two species of Staphylinidae and one species of Histeridae, Bolboceratidae, Lucanidae, Coccinellidae, Anthribidae and Buprestidae.

З 80-х років ХХ ст. був накопичений досить об'ємний матеріал із досліджень колеоптерокомплексів на Криворіжжі. І досі триває еколого-фауністичне вивчення твердокрилих природних, антропогенно-трансформованих біогеоценозів та біотопів, які підлягають інтенсивному промислового і техногенному забрудненню у регіоні.

Мета нашої роботи – виявити твердокрилих Криворіжжя, які занесені до Червоної книги Дніпропетровської області. Ми проаналізували видовий склад твердокрилих Криворіжжя, встановлений у результаті попередніх багаторічних досліджень. Нами було виявлено 29 видів з 9 родин: туруни (Carabidae) - *Cicindela soluta* (Dejean, 1822), *Calosoma sycophanta* (Linnaeus, 1758), *Carabus besseri* (Fischer von Waldheim, 1822), *C. bessarabicus* (Fischer von Waldheim, 1823), *Patrobus atrorufus* (Storm, 1768), *Pterostichus macer* (Marsham, 1802), *Pt. melas* (Creutzer, 1799), *Taphoxenus gigas* (Fischer von Waldheim, 1823), *Laemostenus terricola* (Herbst, 1784), *Agonum atratum* (Duftschmidt, 1812), *Amara fulva* (De Geer, O. Muller, 1776), *A. equestris* (Duftschmidt, 1812), *Ophonus diffinis* (Dejean, 1829), *Callistus lunatus* (Fabricius, 1775), *Chlaenius festinus* (Panzer, 1796), *Chlaenius alutaceus* (Gebler, 1829), *Demetrias imperialis* (Germar, 1824), *Polystichus connexus* (Fourcroy, 1785), *Mastax thermarum* (Steven, 1806); карапузики (Histeridae) - *Hololepta plana* (Sulzer, 1776); хижачки (Staphylinidae) - *Tasgius pедator* (Gravenhorst, 1802), *Emus hirtus* (Linnaeus, 1758); больбоцератида (Bolboceratidae) - *Odontoes armiger* (Scopoli, 1772); рогаці (Lucanidae) - *Lucanus cervus* (Linnaeus, 1758); вусачі (Cerambycidae) - *Aromia moschata* (Linnaeus, 1758), *Dorcadion equestre* (Laxmann, 1770), *D. pusillum* (Kuster, 1847); златки (Buprestidae) - *Actaeoderella flavofasciata* (Piller et Mitterpacher, 1783); сонечка (Coccinellidae) - *Anatis ocellata* (Linnaeus, 1758); слоники несправжні (Anthribidae) - *Platystomos albinus* (Linnaeus, 1758).

Ця робота є актуальною і має велике природоохоронне значення, адже, незважаючи на складні екологічні умови, що склалися внаслідок інтенсивного антропогенного тиску в регіоні, видовий склад вразливих, рідкісних і зникаючих твердокрилих лишається досить багатим. Це має спонукати до охорони територій, на яких перелічені вище види комах трапляються найчастіше.

**Дементєва Я.**

РЕАКЦІЯ ОРНИТОФАУНИ НА НЕСТАНДАРТНІ ПОГОДНІ УМОВИ  
В ЗИМОВИЙ ПЕРІОД

*Харківський національний педагогічний університет імені Г. С. Сковороди  
вул. Алчевських, 29, м. Харків, 61002, Україна  
dementeeva.y@gmail.com*

**Dementieva Y.** REACTION OF ORNITHOFAUNA ON NON-STANDARD WEATHER CONDITIONS IN WINTER PERIOD. The sharp rise in temperature in recent years has created new habitats for wildlife. Therefore, dynamic response from scientists is needed. In the winter season of late 2019 - early 2020, a monitoring study of ornithofauna was

conducted in the landfill sites. Significant differences with the normal state of affairs were noted. Thus, the territories of the test sites create special conditions for the existence and wintering of birds, and the current temperature regime enhances this effect.

Контроль антропогенної трансформації ландшафтів потребує від науковців ретельного вивчення ситуацій сьогодення. Дослідження динамічних змін у природному середовищі має велике значення для розвитку науки, оскільки живі організми зазнають впливу дуже швидко й інколи безповоротно. Через глобальні зміни клімату і метеорологічні умови виникає необхідність постійно вивчати явища та процеси в екосистемах, які мають важливе значення для їхньої саморегуляції. За даними Центральної геофізичної обсерваторії імені Бориса Срезневського, на території України в період з грудня 2019 р. до березня 2020 р. кліматологи зафіксували більше 60 погодних рекордів за останні 139 років. Харківський обласний центр гідрометеорології також відзначає, що зима 2019-2020 років у Харкові була рекордно теплою. Середня температура повітря з грудня по лютий становила +0,6 градуса, що на 4,8 градуса вище середніх зимових норм за період 1981-2010 років і на 5,9 градуса вище норми 1961-1990 років.

Наші дослідження проведені з другої декади листопада до першої декади березня (зимовий період) на територіях сміттєзвалищ і полігонів твердих побутових відходів (далі ТПВ) Харківської області. Обліки чисельності птахів проводили кожного тижня. Усього проведено 16 обліків орнітофауни.

Природні умови території полігонів ТПВ апіорі суттєво відрізняються від інших територій урбосистем постійною наявністю харчових ресурсів, підвищеними показниками температурного режиму, віддаленістю від міста, що приваблює в зимовий період чимало птахів. Так, нами зареєстровано 24 види птахів, серед яких: крук (*Corvus corax*), грак (*Corvus frugilegus*), галка (*Corvus monedula*), ворона сіра (*Corvus cornix*), сорока звичайна (*Pica pica*), сойка (*Garrulus glandarius*), костогриз (*Coccothraustes coccothraustes*), горобець польовий (*Passer montanus*), чикотень (*Turdus pilaris*), в'юрок (*Fringilla montifringilla*), зеленяк (*Carduelis chloris*), коноплянка (*Acanthis cannabina*), щиглик (*Carduelis carduelis*), чиж (*Spinus spinus*), синиця велика (*Parus major*), жайворонок чубатий (*Galerida cristata*), плиска біла (*Motacilla alba*), шпак (*Sturnus vulgaris*), голуб сизий (*Columba livia*), мартин жовтоногий (*Larus cachinnans*), канюк звичайний (*Buteo buteo*), яструб великий (*Accipiter gentilis*), яструб малий (*Accipiter nisus*). Усі вказані види траплялися на полігонах у різній кількості протягом усього періоду досліджень. Більшість птахів були зареєстровані на Роганському полігоні ТПВ. Так, шпаки (50-100 особин) перебували тут протягом усієї зими, а на територію Дергачівського полігону ТПВ прилетіли на початку лютого. Зазвичай перші особини мігруючих шпаків у Харківській області трапляються у середині березня (Надточий, Чаплыгина, 2010).

Таким чином, виявлення протягом зимового періоду 24-х видів птахів, серед яких є типові мігранти (плиска біла, шпак, мартин жовтоногий), свідчить про суттєвий вплив надвисоких температурних показників цьогорічної зими.

### **Загородний І., Дикий І.**

#### **РОЛЬ КАЖАНІВ У ЖИВЛЕННІ *ASIO OTUS* L. (НА ПРИКЛАДІ М. ЛЬВОВА)**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
vaniazahorodniy@gmail.com*

**Zahorodnyi I., Dykyy I. THE ROLE OF BATS IN THE NUTRITION OF *ASIO OTUS* L. IN LVIV.** The main composition of the diet of eared owls in this territory are small rodents. Bats are usually in small quantities among the *Asio otus* nutrients, which more indicates the random nature of their presence in the diet.

Рукокрилі та совоподібні досі залишаються відносно слабо вивченими групами хребетних тварин. Багато в чому це пов'язано з їхнім специфічним сутінковим і нічним способом життя. Оскільки кажани дуже рідкісні в живленні сов, оцінити ступінь хижацтва на них складно. Частка окремих видів рукокрилих у живленні сов найчастіше не перевищує 1–2 % (Шариков, 2014).

У нашому дослідженні ми використовували метод аналізу вмісту пелеток, залишених совою на ділянках її зимових скупчень (Підоплічко, 1963). Матеріали для дослідження були зібрані протягом 2015, 2018 і 2019 рр. Усього проаналізовано 973 пелетки. Діагностику видів мікромамалій проводили за особливостями будови фрагментів черепа, щелеп, зубів і зубних рядів (Виноградов, 1941).

Як місця денних скупчень сови використовують деревні породи – ялину європейську (*Picea abies* L.), тую західну (*Thuja occidentalis* L.), крона яких краще захищає сов від несприятливої дії погодних умов, зокрема, вітру. Треба відзначити, що місця зимівлі сов розташовувалися щорічно в одних і тих же локаціях, поруч із колоніями кажанів. Основу раціону сови вухатої на цій території становлять дрібні гризуни: представники родини Muridae (7 видів) – 16,5 % і родини Arvicolidae (4 види) – 77,1 %. Така велика видова різноманітність гризунів зумовлена мозаїчністю ландшафтів, що створює сприятливі умови як для проживання різних видів гризунів, так і для вдалого полювання сов. Також було виявлено рештки комахоїдних (Soricidae і Talpidae) – 0,4 %, що є досить незвично, оскільки поблизу розташовані невеликі ставочки і заболочені території та багато густих трав'яних заростей, де водяться мідії й білозубки. Комахи теж дуже рідко трапляються в раціоні сови,

переважно у весняно-літній період. У Львові в раціоні сови вухатої із комах виявлено тільки хруща травневого західного (*Melolontha melolontha* L.) 0,2 %. Стосовно птахів, то вони трапляються у раціоні сови рідко (1 %), проте регулярно. Кажани трапляються серед об'єктів живлення *A. otus*, однак зазвичай у незначній кількості, що більше вказує на випадковий характер їхнього споживання. У Львові ж їхня чисельність у раціоні висока (в середньому – 4,9 %). Це був лише один вид *Nyctalus noctula*. У різні роки цей показник коливався від 1 % до 9,5 %. На нашу думку, велика кількість особин рудої вечірниці у живленні птаха пов'язана зі спеціалізацією однієї або кількох особин, які, швидше за все, вичікували та ловили їх на вильоті з материнської колонії. З літератури відомі й випадки полювання сов на кажанів на льоту, але це трапляється рідко (Полищук, 2008). Хоча загалом кажани не відіграють значної ролі у живленні сови вухатої на території м. Львова, однак іноді можуть мати високі показники траплення у її пелетках, за рахунок пристосувальної поведінки сови вухатої до споживання випадкових об'єктів живлення.

#### **Марців М., Дикий І.**

### **ЗИМОВИЙ РАЦІОН ЛИСИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ (*VULPES VULPES*) НА ТЕРИТОРІЇ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
marichkamartsiv@gmail.com*

**Martsiv M., Dykyi I.** WINTER DIET OF THE RED FOX (*VULPES VULPES*) IN THE LVIV REGION. The winter diet of red fox in the Lviv region during 2016-2020 is investigated. Changes in the diet in the circles of warm winter are described. In the winter the number of rodents decreases and increases the number of objects of anthropogenic origin.

Зимовий період – один із найважливіших у житті тварин. Зокрема, товщина снігового покриву та льодової кірки має безпосередній вплив на життєдіяльність різних видів тварин (Горошко, 2017). Останніми роками відбувається зміна клімату, яка зумовлює суттєве пом'якшення погодних умов і тенденцію до зменшення холодового дискомфорту в Україні та світі (Малицька, 2017). Оскільки останні зими були практично безсніжні, ми поставили за мету з'ясувати вплив цього явища на живлення типового хижака у Львівській області.

Матеріал для досліджень зібрано протягом трьох зимових періодів з 2017 по 2020 рр., проаналізовано 30 шлунків лисиці звичайної, добутих мисливцями на території Львівської області.

Виявлено, що зимовий раціон лисиці звичайної включає об'єкти рослинного (46 %) і тваринного (53 %) походження. Рослинні корми представлені 13 об'єктами, серед яких домінувала трав'яна рослинність, частота траплення якої становила 22 % загального раціону, листя і насіння соняшника траплялися рідше – по 4 %, кора дерев і яблука – по 3 %, дуже рідко траплялися морква, виноград, шипшина, квасоля, пшениця, овес – по 1 % для кожного з перелічених об'єктів. Корми тваринного походження є різноманітнішими та налічують 18 об'єктів живлення. Серед них дуже мало трапляються безхребетні та риби – по 1 %. Основою раціону лисиці в зимовий період є ссавці – 32 % та птахи – 19 %. Останні представлені чотирма видами: курка свійська – 9 %, голуб сизий – 1 %, гуска свійська – 1 %, куріпка сіра – 2 %, а також траплялися залишки птахів, які не вдалося визначити, – 6 %. Серед ссавців найчастіше лисиця полює на полівку звичайну – 12 %, трапляються в раціоні хижака кріль домашній і коза свійська – по 3 %, свиня дика, хом'як звичайний, щур сірий – по 2 %, миша лісова, соня горішникові, вівірка звичайна, кіт свійський – по 1 %, а також ссавці, які не вдалося визначити, – 4 %. У двох шлунках лисиці звичайної було виявлено поліетилен.

Отже, у зимовий період лисиця звичайна тяжіє до міських поселень, де живиться свійськими тваринами, залишками копитних на сміттєзвалищах і скотомогильниках, – 19 %. Також у цей період знижується частота траплення в її раціоні полівки звичайної, яка в осінній період фіксується майже у кожному другому зразку (Марців, 2018). Зокрема, в усіх працях до 2000 р. включно описано вагоме значення гризунів у всі сезони (Полушина, 1967; Татарінов, 1973; Лебедева, 2000, Роженко, 2006). Проте на території Українських Карпат уже в зимовий період 2006 р. описано, що раціон хижака містить незначну частину гризунів, а більшість шлунків заповнені побутовими відходами (Лушак, 2006).

Таким чином, можемо стверджувати, що раціон лисиці звичайної останніми десятиріччями поступово змінюється, а на зміну мишоподібним гризунам з'являються корми антропогенного походження.

#### **Пісарєв С.**

### **КРУПНІ КОТУШКОВІ (MOLLUSCA, PLANORBIDAE: CORETINI, HELISOMATINI) БАСЕЙНУ РІЧКИ СІВЕРСЬКИЙ ДОНЕЦЬ (ПІВДЕННО-СХІДНА ЄВРОПА)**

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
serg-pisarev@i.ua*

**Pisarev S.** BIG PLANORBIDS (MOLLUSCA, PLANORBIDAE: CORETINI, HELISOMATINI) FROM SIVERSKYI DONETS RIVER BASIN (SOUTH-EAST EUROPE). 2 Species of big planorbids subfamily of Planorbidae Rafinesque, 1815 were discovered in the Siverskyi Donets river basin in 2010-2019. Distribution of *Planorbarius*

*corneus* covers almost the entire territory of the Siverskyi Donets river basin. Prefers small eutrophic ponds (8-24 specimens / m<sup>2</sup>). In oligotrophic reservoirs the number is low. It is not present in high-pollution watercourses. The findings of the invasive species of *Planorbella duryi* limited of empty shells along the river Kazennyi Torets, but it is not possible to speak of a stable population here.

Фауна дрібних катушкових підродини Planorbinae Rafinesque, 1815 басейну р. Сіверський Донець відносно добре вивчена (Загравкин, 1980; Тимошенко, Ярошенко, 1991; Уваєва, 2005, 2006; Pisarev, 2014). За сучасною систематикою вони належать до складу триб Planorbini Rafinesque, 1815 та Segmentinini F.C. Baker, 1945.

Наші дослідження проведено у 2010-2019 рр. у водних об'єктах різних типів басейну р. Сіверський Донець у Донецькій, Харківській областях України та Белгородській області РФ. Усього відібрано майже 1700 проб приблизно на 150 станціях, оглянуто близько 20 тис. екз. живих молюсків і їхніх черепашок.

У результаті досліджень у басейні р. Сіверський Донець у 2010-2019 рр. виявлено 2 види крупних катушкових підродини Planorbinae.

Триба Coretini Gray, 1847. *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758). Розповсюдження *P. corneus* охоплює майже всю територію басейну р. Сіверський Донець – від верхньої його частини (Белгородське водосховище, РФ; Писарев, 2012в) до північних районів Донецької області (р. Сухий Торець; Писарев, Трохимчук, 2015). Цей вид катушкових віддає перевагу невеликим за площею евтрофним лісовим водоймам без течії (Святогірське лісництво, Донецька область; Писарев, 2012б), у яких чисельність молюсків може сягати 8-24 ос./м<sup>2</sup>. В оліготрофних водоймах чисельність виду дуже низька (Белгородське водосховище, РФ) або він відсутній (Клебан-Бикське водосховище, Донецька область; Писарев, 2013; Писарев, Трохимчук, 2014а). Відсутній вид також у водотоках із високим забрудненням промислово-побутовими відходами (р. Казенний Торець, Донецька область; Шелободина, Писарев, 2011).

Триба Helisomatini F.C. Baker, 1928. *Planorbella duryi* (Wetherby, 1879). Знахідки інвазійного виду *P. duryi* обмежуються знахідками порожніх черепашок у руслі р. Казенний Торець, м. Краматорськ Донецької області (Тимошенко, Ярошенко, 1991; Шелободина, Писарев, 2011). Кілька порожніх потертих і потрошених середніх розмірів черепашок статевозрілих тварин знайдено нами нижче стоку з міських очисних споруд. Залишається нез'ясованим, наскільки життєздатна ця популяція, адже розмноження молюсків тут не доведено, кладки яєць не знайдено.

Власне, говорити про стійку популяцію (як і в багатьох місцях країн Західної Європи) немає підстав. Швидше за все, черепашки регулярно змиваються в річку з відстійників міських очисних споруд. А туди їх приносять каналізаційні стоки «завдяки» акваріумістам. З акваріумів зайвих черевонігих просто зливають у каналізацію. Молюски успішно долають усі чинники каналізаційної системи, осідають у відстійниках, живуть там деякий час, а після загибелі їхні черепашки змиваються потужним стоком умовно чистої води, яка надходить безпосередньо в річку.

### **Питель С., Скирпан І.**

#### **ПРЕДСТАВНИКИ НАДРОДИН VESPOIDEA ТА APOIDEA (SPHECIFORMES) У КОЛЕКЦІЯХ ЗООЛОГІЧНОГО МУЗЕЮ ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*Зоологічний музей Львівського національного університету імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*pytelsofia98@gmail.com*

**Pytel S., Skyrpan I. REPRESENTATIVES OF THE VESPOIDEA AND APOIDEA (SPHECIFORMES) IN THE COLLECTIONS OF THE ZOOLOGICAL MUSEUM OF IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV.** This paper presents analysis of the entomological collections kept in the Zoological Museum of Ivan Franko National University of Lviv. We analyzed 482 specimens belonging to 9 generas (*Dolichovespula*, *Vespula*, *Polistes*, *Eumenes*, *Scolia*, *Vespa*, *Sceliphron*, *Philanthus* and *Bembix*), most of the specimens were collected in Ukraine (Vinnytsia, Volyn, Zakarpattia, Zaporizhia, Ivano-Frankivsk, Lviv, Odesa, Rivne and Kharkiv regions), three specimens are from the United States of America (2012), and one each from Germany (2005), Latvia (2005), Italy (2012) and Egypt (2005). Specimens, were collected in Italy and Germany kept without the collector's name.

Одними із найцінніших колекцій Зоологічного музею ЛНУ імені Івана Франка є ентомологічні, що налічують більш ніж 92 тис. екземплярів. Вони відіграють важливу роль у сучасній науці, проте значна їхня частина залишається ще не опрацьованою.

Однією з таких колекцій є збори перетинчастокрилих, зокрема, представників надродин Vespoidea та Apoidea (Spheciformes). Серед них є види ос, що вигодовують потомство іншими комахами чи павуками, таким чином регулюючи чисельність безхребетних. Крім того, імаго ос живляться нектаром і при цьому переносять незначну кількість пилку, виступаючи в ролі потенційних запилювачів багатьох покритонасінних рослин. Цій групі комах раніше приділяли мало уваги, тому ми вирішили детальніше опрацювати матеріали, зібрані починаючи з 1966 року.

Колекція ос налічує 482 екземпляри, зібрані, в основному, на території України (Вінницька, Волинська, Закарпатська, Запорізька, Івано-Франківська, Львівська, Одеська, Рівненська та Харківська області). Три зразки

були привезені співробітниками музею зі Сполучених Штатів Америки та по одному із Єгипту й Латвії. Крім того, є зразки з Італії та Німеччини, але їхній колектор невідомий.

Перші збори датовані 1966 та 1972 роками (Coll. доц. І. М. Бубликом). Решта зразків зібрані упродовж останніх років.

Загалом у колекціях є 20 видів ос, що належать до 4 родин (Vespidae, Scolidae, Sphecidae, Crabronidae) та 9 родів (*Dolichovespula*, *Vespula*, *Polistes*, *Eumenes*, *Scolia*, *Vespa*, *Sceliphron*, *Philanthus* та *Bembix*).

Найчисленніший рід *Dolichovespula* представлений 5 видами: *Dolichovespula norwegica* (Fabricius, 1781), *D. saxonica* (Fabricius, 1793), *D. adulterina* (Buysson, 1905), *D. sylvestris* (Scopoli, 1763) та *D. media* Retzius, 1783.

Рід *Vespula* представлений 3 видами: *Vespula germanica* (Fabricius, 1793), *V. vulgaris* (Linnaeus, 1758) та *V. rufa* (Linnaeus, 1758).

Роди *Polistes* та *Sceliphron* також налічують по 3 види – *Polistes nimpha* (Christ, 1791), *P. dominula* (Christ, 1791), *P. gallicus* (Linnaeus, 1767) й *Sceliphron destillatorium* (Illiger, 1807), *S. curvatum* (Smith, 1870) та *S. spirifex* (Linnaeus, 1758) відповідно.

Рід *Scolia* представлений 2 видами – *Scolia hirta* (Schrank, 1781) та *S. quadripunctata* Fabricius, 1775.

Роди *Vespa*, *Eumenes*, *Philanthus* та *Bembix* представляють лише по одному виду: *Vespa crabro* Linnaeus, 1758, *Eumenes coarctatus* Linnaeus, 1758, *Philanthus triangulum* (Fabricius, 1775) та *Bembix rostrata* (Linnaeus, 1758) відповідно.

Усі опрацьовані зразки є інвентаризованими та зберігаються в ентомологічних колекціях Зоологічного музею ЛНУ імені Івана Франка.

**Трошин А., Головатюк А.**

ТУРУНИ ЛАНДШАФТНОГО ЗАКАЗНИКА  
ЗАГАЛЬНОДЕРЖАВНОГО ЗНАЧЕННЯ «БАЛКА ПІВНІЧНА ЧЕРВОНА»

Криворізький державний педагогічний університет  
просп. Гагаріна, 54, м. Кривий Ріг, 50086, Україна  
andrey.troshin2275@gmail.com

**Troshyn A., Golovatyuk A.** GROUND-BEETLES OF THE NATIONAL LANDSCAPE RESERVE “BALKA PIVNICHNA CHERVONA”. As a result of research and analysis of preliminary data, 96 species of ground-beetles from 40 genera were registered in the territory of the reserve. Among the life forms, stratobionts (75 species) are predominant, predators (64 species) in the trophic structure, and mesophylls (63 species) in relation to moisture.

Криворіжжя – це потужний гірничо-металургійний комплекс. У результаті діяльності цього комплексу відбулося швидке формування техносфери, що, у свою чергу, позначилося (не найкращим чином) на рослинному покриві та тваринному світі. Тому є потреба у постійному моніторингу стану природних умовно не змінених територій. Однією з таких територій є ландшафтний заказник загальнодержавного значення «Балка Північна Червона».

Щоб перевірити сучасний стан заказника, ми провели польові дослідження. Група комах, яку ми досліджували, – туруни (Carabidae). Саме ця родина є однією з найбільш численних і широко представлена різноманітними життєвими формами.

У результаті попередніх (Звіт про заказник загальнодержавного значення «Балка Північна Червона», 1990) і наших досліджень на території заказника було відмічено 96 видів турунів із 40 родів. За кількістю видів переважають роди *Harpalus* (12 видів), *Pterostichus* (11), *Chlaenius* (8), *Bembidion* (6), *Calathus* та *Amara* (по 5), *Calosoma* (4), *Clivina* та *Poecilus* (по 3 види). Усі інші роди представлені 1 або 2 видами.

Фоновим видом є *Calathus fuscipes* (Goeze, 1777), доміантним – *Calathus ambiguus* Paykull, 1790, субдомінантами – *Zabrus spinipes* (Fabricius, 1798), *Ophonus azureus* (Fabricius, 1775), *Calathus melanocephalus* (Linnaeus, 1758) та *Microlestes* sp., звичайні – *Anchomenus dorsalis* (Pontoppidan, 1763) та *Harpalus rufipes* (Degeer, 1774). Інші види на даній території є рідкісними.

Екобіоморфи (Шарова, 1981) переважно представлені стратобіонтами підстилочними (75 видів), епігеобіонтами налічують 10 видів, геобіонти ріючі – 7 видів, тамнохортобіонти – 2 види, а страто-петробіонти і страто-ботробіонти – по 1 виду кожен. Стосовно трофічної структури, то найширше представлені хижаки – 64 види. Зоофітофаги налічують 18 видів, фітозоофаги – 10, фітофаги – 4. За відношенням до вологості найчисленнішими є мезофіли – 63 види, мезоксерофіли – 9 видів, мезогідрофіли – 14, гігромезофіли – 8, мезофільні термофіли та ксеромезофіли – по 1 виду відповідно.

**Чайка Ю.**

ПОРІВНЯННЯ ФАУНИ РУКОКРИЛИХ МЕДОВОЇ ПЕЧЕРИ  
ПРОТЯГОМ ОСІНЬОГО РОІННЯ І ЗИМОВОЇ ГІБЕРНАЦІЇ

Львівський національний університет ім. Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
chaika.yuriy24@gmail.com

**Chaika Y.** COMPARISON OF BAT FAUNA AT «MEDOVA PECHERA» CAVE DURING AUTUMN SWARMING AND WINTER HIBERNATION. «Medova Pechera» is situated at the south-eastern borders of the Lviv city.

The fauna of this cave consist of 11 species of bats. 9 species were discovered during winter hibernation and 9 species during autumn swarming. The most numerous species during autumn swarming was *Eptesicus serotinus*. During our research we made a first record of *Myotis mystacinus* for the «Medova Pechera» cave.

Медова Печера розташована на пд.-сх. околицях міста Львова, на краю Винниківського лісопарку. Загальна довжина ходів приблизно 56 м, середня висота 4,5 м, середня ширина 8,5 м (Башта й ін., 2004). Незважаючи на те, що Печера викликала інтерес у зоологів зі середини ХХ ст., дослідження стосувалися вивчення рукокрилих під час зимової сплячки, а осінній аспект залишався невивченим.<sup>[1,2]</sup>

З літературних даних і власних спостережень відомо про 11 видів рукокрилих на території Печери. Зимові дослідження з хіроптерофауни відомі зі середини ХХ ст, зокрема, К. А. Татаринів фіксував зниження чисельності й видового складу рукокрилих з 50-х до 70-х років минулого століття, а саме: 50–70 особин шести видів у 1950–1951 рр., 20 особин п'яти видів у 1960–1962 рр. і лише 2–3 особини двох видів протягом 1971–1973 рр. (Татаринів, 1973). Подальші дослідження протягом 1996–2000 рр. проводив А.-Т. Башта і реєстрував від 5 до 15 особин п'яти видів рукокрилих. (Башата, 2010). У 2001–2010 рр. дослідження проводили Дикий І., Кусьнеж О., Мисюк В., під час яких було виявлено п'ять видів рукокрилих загальною чисельністю від 4 до 18 особин. Під час наших досліджень у 2015–2020 рр. відзначено сім видів рукокрилих, а саме: *Plecotus auritus*, *Pl. austriacus*, *Barbastella barbastellus*, *Eptesicus serotinus*, *Myotis myotis*, *M. daubentonii*, *M. nattereri*. Чисельність рукокрилих під час обліків коливалася від 2 до 7 особин. Цікавими є знахідки *Pl. austriacus* і *E. serotinus*, оскільки особин цих видів не виявляли в Медовій Печері з 70-х років минулого століття.

Осіннє роїння поблизу Медової Печери досліджене слабо і не підтверджене жодними літературними даними. Під час наших досліджень протягом 2015, 2016 і 2019 рр. ми виявили дев'ять видів рукокрилих (*Pl. auritus*, *Pl. austriacus*, *B. barbastellus*, *E. serotinus*, *M. myotis*, *M. nattereri*, *M. bechsteinii*, *M. mystacinus*). *M. mystacinus* виявлений вперше. Чисельність рукокрилих під час обліків коливалася від 7 до 34 особин. Найчисленнішим видом був *E. serotinus*.

**Bizhanova N., Grachev Y.**

THE RELEVANCE OF STUDY AND CONSERVATION  
OF THE TURKESTAN LYNX (*LYNX LYNX ISABELLINA*) IN KAZAKHSTAN

*Institute of Zoology, 93, Al-Farabi Ave., Almaty, Kazakhstan*  
*Al-Farabi Kazakh National University, 71, Al-Farabi Ave., Almaty, Kazakhstan*  
*nazerke.bizhanova@gmail.com*

The Turkestan lynx (*Lynx lynx isabellina* Blyth, 1847) is a rare subspecies of the Eurasian lynx (*Lynx lynx* L., 1758), listed in the Red Data Book of the Republic of Kazakhstan, with note that under unfavourable (ecological and human-made) conditions the subspecies can become extinct. This subspecies, along with the Tien Shan brown bear (*Ursus arctos isabellinus*) and the snow leopard (*Uncia uncia*), is a rare representative of Carnivora inhabiting mountains in the south and south-east of Kazakhstan.

Conservation of the Turkestan lynx is important due to its unstable number. The decrease of lynx number is observed in heavily snow-covered years, during the seasons of drought and due to decrease of the number of tolai hare (*Lepus tolai*) and gray marmot (*Marmota baibacina*) – the main lynx prey. Moreover, human-made threats such as habitat degradation and fragmentation, poaching, loss of prey base, conflict with livestock farmers (retaliatory killing due to livestock depredation) are the main limiting factors for the lynx.

The number of the lynx tends to changes, but there is a little information on this matter. In the Ile-Alatau State National Nature Park, the lynx in 2015 was noticed 35 times by Park Inspectors, in 2016 – 11 times. In 2017 lynx's traces and individuals themselves were noticed by researchers in 37 occasions; the number continued to rise in 2018. In Almaty Reserve, it is estimated that there are approximately 10 individuals of the lynx (less than those of the snow leopard). The lynx occurs in Kolsai Kolderi National Park, yet the number has not been estimated. Whereas the number of poaching incidents have increased.

This subspecies is unique to the mountains of Tien Shan and Dzhungarian (Zhetisu) Alatau, and without the full-scale research and improving conservation efficiency, the number of the Turkestan lynx might gradually or sharply decrease, and, eventually, become extinct. Similar situations happened to other carnivores in Kazakhstan, thus, we lost Caspian tiger (*Panthera tigris virgata*), Asian cheetah (*Acinonyx jubatus venaticus*), and red wolf (*Canis rufus*). The subspecies must be studied and conserved.

For this purpose, since the end of 2019 we have started a full-scale research on the population and conservation status of this rare carnivore. The research is funded by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan within the framework of the project “Regularities of the spatial structure and biotopic distribution of rare and economically important mammalian species in the protected and recreational zones of the Northern Tien Shan as the basis for their conservation and rational use” (2018-2020, Institute of Zoology, Almaty, Kazakhstan) and by the Rufford Small Grants within the framework of the project “Population and conservation status of the Turkestan lynx (*Lynx lynx isabellina* Blyth, 1847) in the Kazakh part of the Northern Tien Shan” (2020-2021).

The research will result, in particular, in implementation of our recommendations and monitoring methodology in the conservation practice of protected areas aimed at improving of population conditions of the lynx in protected areas and Kazakhstan overall.



**Boichuk I., Zamoroka A.**

THE CURRENT DISTRIBUTION OF CALAMOBIUS FILUM  
(INSECTA: COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE) IN UKRAINE

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University  
57, Shevchenko St., Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine  
boichykiryna@ukr.net, andrii.zamoroka@pu.if.ua

Since the first record of *Calamobius filum* Guerin-Meneville 1846 in Zakarpattia Region of Ukraine in 2015 (Zamoroka, Mateleshko, 2016) the species was intercepted in multiple localities within Ukraine far from its original range. This confirms the main idea that *C. filum* range rapidly expanding due to climatic changes (Zamoroka, Mateleshko, 2016; Zamoroka, 2017). Monitoring of *C. filum* spreading is important for estimating of its influence on ecosystems and possible economic consequence in crop production (Zamoroka, 2017).

We conducted the comprehensive field studies and revision of entomological collections for elucidate the current distribution of *C. filum* in Ukraine. The intensity of invasion we studied on sample plots within Regions of Chernivtsi, Ivano-Frankivsk, Khmelnytsk, Lviv, Ternopil, Volyn and Zakarpattia. We also studied entomological collections deposited in Vasyl Stefanyk Precarpathian University (PNU), Uzhhorod National University (UzhNU), Lesya Ukrainka Eastern European National University (EENU), The State Museum of Natural History (SMNH), The State Museum of Nature of V. N. Karazin Kharkiv National University (SMNK), Halych National Park (HNP), Nature Reserve "Medobory" (NRM), Rivne Nature Reserve (RNR). For additional information we used data of citizen science presented in Ukrainian Biodiversity Information Network (<http://ukrbin.com/>) and data from enthusiastic entomologists.

Our results show the significant changes in distribution of *C. filum* during the last decade (2010-2019). While the original areal of *C. filum* occupied Crimean Peninsula and Black Sea coast in Ukraine (Zagaykevych, 1961; Bartenev, 2011), at the date the species is widespread within the most territory of Ukraine, reaching of the south of Polissya. Our results showed multiple records of *C. filum* in Ukraine. These include: **Chernivtsi Region:** Khotyn; **Crimea Region:** Alushta, Alupka, Mt. Demerdzhi, Gursuf, Izobilne, Krasnokamyanka, Malyi Mayak, Nikita, Pushkine, Rybache, Simferopol, Yalta, Verkhnya Kutuzivka; **Dnipropetrovsk Region:** Rayivka; **Ivano-Frankivsk Region:** Halych, Dibrova, Ivano-Frankivsk, Khokhoniv, Luh, Mariyampil, Nezvysko, Nyzhniv, Tenetnyky; **Kharkiv Region:** Dvorichna, Kamyanka, Okhrimivka, Sharivka; **Kherson Region:** Burkuty, Kozachi Laheri, Skadovsk (isl. Dzharylgach); **Khmelnysk Region:** Volochysk; **Kyiv Region:** Pidhirtsi; **Lviv Region:** Protesy; **Poltava Region:** Drabynivka; **Ternopil Region:** Horodnytsya, Hrymayliv, Koropets, Ostap'e, Ustechko, Vikno; **Zakarpattia Region:** Korolevo, Lubnya, Lyakhivtsi, Onokivtsi, Serednye, Storozhnytsya, Uzhhorod, Zabrid. However, we did not find *C. filum* on the north-western part of Ukraine, including Volyn and Rivne Regions as well as the north of Ternopil and Lviv Regions.

We found that *C. filum* infests three species of wild grows Poaceae (i.e. *Dactylis glomerata* L., *Calamagrostis canescens* (Web.) Roth and *Phalaris arundinacea* L.). However, the intensity of invasion *C. filum* varies in Carpathian-Podillya region. We found highest rate of infestation for *D. glomerata*: from 100% in the Dnister Canyon to 20% in the Carpathians foothills. Infestation of *Ph. arundinacea* was occurred only in Dnister Canyon and estimated on the level 15%. Finally, *C. canescens* was infested on 20-50% by *C. filum* everywhere along Dnister and its right tributaries.

While the typical habitats for *C. filum* are Mediterranean scrub and xerophilous steppe meadows within its native range, it colonizing the mesophilous meadows on the invaded territories (Zamoroka, Mateleshko, 2016; Zamoroka, Kapelyukh, 2016). We found that northward expansion of *C. filum* areal is faster and farther in the eastern part of Ukraine than in the western. This two features shows that humidity of the habitat plays minor role for its range expansion. Contrary this, mean annual temperatures and extreme winter temperatures are crucial for further invasion of *C. filum*. We predict the areal expanding of *C. filum* northward as far as 52-53 degree of the North latitude in Eastern Europe and penetrating of *C. filum* in the territory of Belarus and Eastern Poland.

**Fedyniak M., Shparyk V.**

THE BOX TREE MOTH (*CYDALIMA PERSPECTALIS*, LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AN INVASIVE ALIEN SPECIES IN IVANO-FRANKIVSK: DISTRIBUTION AND ESTIMATION OF INVASION

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University  
57, Shevchenko St., Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine  
fedinakmaria@gmail.com

An invasive alien species (IAS) is a species established outside of natural distribution and becomes problematic. IAS may lead to changes in the structure and composition of ecosystems detrimentally affecting ecosystem services, human economy and wellbeing (IUCN, 2018). The Box Tree Moth *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859), a species from East Asia, which was firstly recorded in Europe in 2006 (Krüger, 2008). Larvae of this species feed on the leaves of *Buxus spp.*, seriously damaging these plants. Moreover, *C. perspectalis* features on the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) Alert List.

The first record of *C. perspectalis* in Ukraine dated by 2014. Now, records of this species already available for 11 regions of Ukraine. In 2019 few specimens of box tree moth were found in Ivano-Frankivsk (48.918118, 24.719118), also the damaged trees were observed too (Shparyk, Zamoroka, 2019).

In this study, we tried to estimate the invasion extent of the Ivano-Frankivsk urban area by box tree moth. For the field inventory, we have classified *Buxus sp.* ornamental objects by 8 value categories: **1** - 1 shrub of any size; **2** - 1-10 shrubs of any size; **3** - more than 10 bushes or hedges up to 20 m long (10-60 cm high); **4** - more than 10 bushes or hedges up to 20 m (height more than 60 cm); **5** - hedges 20-50 m long (up to 60 cm high); **6** - hedges 20-50 m long (height more than 60 cm); **7** - hedges more than 50 m (height more than 60 cm); **8** - hedges over 50 m (with high aesthetic value). Each of these objects was associated with one of six impact scenarios describing increasing levels of impact by *C. perspectalis*. This type of semi-quantitative scenarios was designed such that each step in a category reflects an increase in a level of impact on the host object. Thus: **0** - no visible damage; **1** - single damages, but no effects on individual fitness; **2** - damaged parts of the bush; **3** - complete defoliation of individual shrubs or parts of hedges (plant dead); **4** - complete defoliation of individual shrubs or parts of hedges (plant alive); **5** - intensive local invasion with massive non-recoverable damage.

All data were unified and transferred to MS Excel from Office 2016 package. Arranged data were imported to the QGIS 2.18 with using of OSM and fTools plugins for analysis and maps creating.

After an inventory of the plantations of *Buxus spp.*, of the Ivano-Frankivsk urban area, we obtained data from more than 100 observation points. We have established areas with different levels of invasion and identified dependence of the invasion level from the density of urban building, the density of transport ways, the distance from possible sites of invasion, the distance from green zones of the city.

The results of our studies show the presence of a stable invasive population of box tree moth in Ivano-Frankivsk. However, we observed areas with the absence of damages by *C. perspectalis* despite the high density of the host plant. Considering its high dispersal ability, *C. perspectalis*, will probably spread over the all Ivano-Frankivsk urban area.

#### **Ivanets O., Matsevko M.**

#### THE GENUS OF *TRETOCEPHALA* FREY, 1965 (*CLADOCERA: ANOMOPODA*) IN THE CONDITIONS OF HYDROECOSYSTEMS OF WESTERN UKRAINE

*Ivan Franko National University of Lviv*  
4, Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine  
oleh\_ivanets@ukr.net

Zooplanktocenoses occupy a key position in hydroecosystems and determine their optimal functioning under conditions of growing anthropogenic influence. Hydrobionts, in accordance with the provisions of the Water Framework Directive (Directive 2000/60 / EC), play a key role in hydroecological monitoring. Zooplankton is included in the system of comprehensive assessment of the status of water bodies of Ukraine as a biota component.

The *Chydoridae* family, which includes the genus *Tretocephala*, has considerable potential, which determines their important role in hydroecological monitoring. The faunal structure of zooplanktocenoses plays a leading role in this case. Species that rarely occur are also important because they provide stability for communities in stressful situations.

Material (875 samples) was selected during 2003–2019 by conventional methods used in hydrobiology. About 230 individuals of *Tretocephala* were studied.

The genus *Tretocephala* in the study region is represented by one taxon – *Tretocephala ambigua* (Lilljeborg, 1901). Let us give its brief morphological and ecological characteristics, paying attention, first of all, to significant species-specific features. The carapace of *T. ambigua* is yellowish-brown, compressed on the sides. The carapace is sculptured in the form of concentric structures. In females of *T. ambigua* the posterior-upper edge of the carapace is rounded. The posterior-lower edge of the carapace is rounded without teeth. A number of bristles are located along the lower edge of the carapace. The antennula does not reach the apex of the rostrum. The width of the postabdomen is almost the same throughout its length. The upper distal end of the postabdomen is obliquely truncated. Along the upper edge of the postabdomen are 18-20 proximal-decreasing teeth. The length of the females is 0.93-0.96 mm.

In *T. ambigua* males, the posterior-upper and posterior-lower angles of the carapace are rounded. Rostrum is dumb. The antennula does not reach the apex of the rostrum. Postabdomen has a number of bundles of anal teeth. Lateral tufts of bristles on the postabdomen are absent. The length of the males is 0.73-0.76 mm.

In the research region, *T. ambigua* occurs, first of all, in the coastal zone of fish pounds and recreational water bodies, in the river floodplains among the thickets.

*T. ambigua* needs the further attention of researchers, using the latest genetic and population methods to identify intragroup polymorphism and cryptic forms.

#### **Lavriv J., Shparyk V.**

#### SOLDIER FLIES (DIPTERA, STRATIOMYIDAE) OF UKRAINIAN CARPATHIANS: NEW DISTRIBUTION DATA

*Vasyl Stefanyk Precarpathian National University*  
201, Halytska St., Ivano-Frankivsk, 76008, Ukraine  
lavrivjulia2017@gmail.com

The soldier flies (Diptera, Stratiomyidae) is the widespread family which represented by more than 2800 species in the world fauna (Woodley, 2011) and 426 species in the Palaearctic (Nesterenko, 2013). In total, 60 species of Stratiomyidae from 20 genera were found in Ukraine.

Only a few countries in Eastern Europe have complete checklists. Unfortunately, the research of Stratiomyidae on the territory of Ukraine are fragmented. In general 61 species from 20 genera are listed in Ukraine fauna (Mamaev et al., 1977; Gordienko, 1984; Krivosheina, Rozkos'ny, 1985; Berezowsky, Nartshuk, 1997; Lezhenina, 2002; Dubrovsky, 2004; Nesterenko 2014).

In our study we provided data analysis from collections of the Department of Biology and Ecology Zoological Museum, Vasyl Stefanyk Precarpathian National University. The material was identified with the keys to European soldier flies (Rozkosvnyr, 1982, 1983). Thus, 231 specimens were analyzed and 13 species of Stratiomyidae were identified in total:

1. *Actina chalybea* (Meigen, 1804) – 89♂, 47♀;
2. *Beris chalybata* (Forster, 1771) – 1♂;
3. *Beris fuscipes* (Meigen, 1820) – 1♂;
4. *Chloromyia formosa* (Scopoli, 1763) – 6♂, 9♀;
5. *Chloromyia speciosa* (Macquart, 1834) – 4♂, 4♀;
6. *Chorisops nagatomii* (Rozkosný, 1979) – 8♀;
7. *Chorisops tibialis* (Meigen, 1820) – 1♂, 35♀;
8. *Clitellaria ephippium* (Fabricius, 1775) – 4♀;
9. *Microchrysa polita* (Linnaeus, 1758) – 3♂;
10. *Pachygaster atra* (Panzer, 1798) – 9♂, 5♀;
11. *Sargus cuprarius* (Linnaeus, 1758) – 1♂;
12. *Sargus splendens* (Bigot, 1879) – 2♂, 7♀;
13. *Stratiomys chamaeleon* (Linnaeus, 1758) – 2♂.

All identified species were indicated earlier in Ukrainian fauna. We found only one rare species of the Stratiomyidae – *Clitellaria ephippium* (Fabricius, 1775). The imago of *C. ephippium* was found at ovipositing in the nests of the ant *Lasius fuliginosus* (Latreille, 1798). Species are listed as VUs (by IUCN criteria) in Sweden. In Ukraine it was known from only a few points and listed in the Red List of Animal Species of Kharkiv region.

Material examined. Ukraine, Ivano-Frankivsk reg., Homiakivka (48.860998N, 24.819336E), bark of *Q. robur*, 04.07.2019, (V. Shparyk).

To protect *C. ephippium* in the Ukrainian Carpathians, we recommend the following actions:

1. Conservation of typical habitats of *L. fuliginosus* (Latreille, 1798) ants as commensal of *C. ephippium*, and conservation of nests of dendrophilic ants in general. These ants inhabit the lower part of the deciduous trunk, usually damaged by saproxylic beetles, trunks that often contains cavities and deadwood.

2. Comprehensive preservation of old-growth tree stands and special protection of veterans trees in old parks and non-protected forestry areas.

### Semaniuk D., Zamoroka A.

#### PRELIMINARY PHYLOGENETIC ANALYSIS OF LEPTURINI (INSECTA: COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE)

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University  
57, Shevchenko St., Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine  
diana.semanyuk@gmail.com, andrii.zamoroka@pu.if.ua

Lepturini comprises 140 genera and around 400 species (Slipinski and Escalona, 2013; Wang, 2017). Their systematics is based mainly on adult and partially on larvae morphology. It is intricate and mostly artificial, and require critical revision using the molecular phylogenetic assessment. We tested the current vision of Lepturini intratribal relationships (Monné and Monné, 2008 Löbl, Smetana, 2010; Danilevsky, 2014), focused mainly on the “Leptura” genera group. We conducted phylogenetic analyses based on COI sequences. Alignments, statistical analysis and trees constructions were performed in the environment of SeaView 4 software, using PhyML, GTR model, aLRT, NNI and BioNJ (Gascuel, 1997; Guindon and Gascuel, 2003; Anisimova and Gascuel, 2006; Gouy et al. 2010; Guindon and al., 2010).

We revealed the monophyly of Lepturini, obtaining well-resolved phylogenetic maximum likelihood tree with strongly supported nearly the all branches based on aLRT (SH $\geq$ 0.8). A few basal branches of the phylogenetic tree are poor resolved (SH<0.8). These include 1) *Etorofus subhamatus*; 2) *Pedostrangalia pubescens*; 3) *Pedostrangalia revestita*, *Pygoleptura nigrella* and *Lepturalia nigripes*; 4) *Analeptura lineola* and *Alosterna tabacicolor*. Future accurate studies of their relationships are required.

Crown of the phylogenetic tree consists of two large clades *Stictoleptura-Typocerus* and *Strangalia-Anoplodera*. Genus *Leptura s.str.* is sister to the crown with well supported monophyly (SH=0.99). We found polyphyly of *Stenurella*, which include unrelated *Stenurella-1* (*Stenurella melanura* and relatives) and *Stenurella-2* (*Stenurella septempunctata* and relatives). *Stenurella-1* belongs to *Strangalia-Anoplodera* clade and *Stenurella-2* belongs to *Stictoleptura-Typocerus* clade. We also revealed polyphyly of *Stictoleptura*. However, relationships of separate *Stictoleptura* species within close genera (e.g. *Anastrangalia*, *Paracorymbia*, *Brachyleptura*, *Cribroleptura*) are intricate and unclear. This disagrees with all current morphological taxonomical views.

*Stictoleptura-Typocerus* clade subdivide into three branches: 1) *Stenurella*-2-branch; 2) *Typocerus*-branch; 3) *Stictoleptura*-branch. *Stenurella*-2-branch comprises *Stenurella nigra*, *Stenurella septempunctata* and *Leptura maculata* on the one hand and *Lepturopsis*, *Lepturobosca* and *Stictoleptura fontenayi* on the other hand. However, such grouping is poorly supported (SH<0.8). Grouping of *Typocerus* and *Xestoleptura* in *Typocerus*-branch is well resolved with high support (SH=0.84). The intragroup affinity of *Stictoleptura*-branch is completely intricate. It is obvious to accept the fact of polyphyly of *Stictoleptura* as a working hypothesis and to carry out its subsequent revision. *Stictoleptura*-branch includes two groups: 1) *Paracorymbia*, *Brachyleptura*, *Stictoleptura scutellata* and *Stictoleptura canadensis* (SH=0.8) and 2) *Anastrangalia*, *Stictoleptura rubra*, *Stictoleptura succedanea* and *Cribroleptura stragulata* (SH=0.89). Grouping of *Stictoleptura scutellata* within *Paracorymbia-Brachyleptura* support old idea of their congeneric status (Danilevsky, 2002). Monophyly of *Anastrangalia* has maximum support (SH=1.0). We found that *Anastrangalia reyi*, *Anastrangalia dubia* and *Anastrangalia sequensi* are conspecific (Zamoroka and all, 2019). Surprisingly, *Stictoleptura rubra* and *Stictoleptura succedanea* that usually recognized as geographical subspecies in fact are separate species, however with close affinity.

*Strangalia-Anoploclera* clade includes *Strangalia*-branch and *Anoploclera*-branch with intermediate support (SH<0.8). *Strangalia*-branch is monophyletic (SH=0.99) as well as *Anoploclera*-branch (SH=0.83). The last one is species rich consists three groups: 1) *Anoploclera*, *Strangalepta*, *Anoplocleromorpha* and *Strophiona*; 2) *Stenurella*-1; 3) *Judolia* and *Oedecnema*. *Anoploclera*, *Strangalepta* and *Anoplocleromorpha* are monophyletic (SH=0.94) and likely congeneric. Grouping (SH<0.8) with them of enigmatic genus *Strophiona* in unclear. *Stenurella*-1 is monophyletic (SH=0.89) and closely related (SH=0.83) to *Judolia-Oedecnema*. *Judolia* and *Oedecnema* are likely congeneric while *Oedecnema* was turned out the terminal taxon of the clade.

**МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ / MOLECULAR AND CELL BIOLOGY****Братійчук Д.<sup>1,2</sup>, Куриленко О.<sup>1</sup>, Сибірна Н.<sup>2</sup>.****ВИВЧЕННЯ РОЛІ ПЕРОКСИСОМ У МЕТАБОЛІЗМІ Й АЛКОГОЛЬНІЙ  
ФЕРМЕНТАЦІЇ КСИЛОЗИ ТА ГЛІЦЕРОЛУ У ДРІЖДЖІВ *OGATAEA POLYMORPHA***<sup>1</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

dmytrobrat1998@gmail.com

**Bratiichuk D., Kurylenko O.O., Sybirna N.O.** INVESTIGATION OF THE ROLE OF PEROXISOMES IN METABOLISM AND ALCOHOLIC FERMENTATION OF XYLOSE AND GLYCEROL IN YEAST *OGATAEA POLYMORPHA*. Xylose is the second major sugar of lignocellulose, which is an alternative non-food raw material for the production of fuel ethanol. *Ogataea (Hansenula) polymorpha* is one of the most thermotolerant methylotrophic yeast species with ability to utilize xylose and ferment this sugar to ethanol. In this study we have investigated the effect of the overexpression of *AOX1* gene encoding alcohol oxidase, enzyme that catalyze reaction of production ethanol from xylose in *O. polymorpha*. The obtained recombinant strain was characterized by increased ethanol production from xylose and glycerol. Moreover, it was found that the deletion of *PEX11* gene in wild-type strain resulted in increase of ethanol production from xylose by 1.5 times on 2<sup>nd</sup> day of fermentation, while overexpression of *PEX11* had no significant effect on the production of ethanol from xylose.

Ксилоза - це другий за вмістом цукор у складі лігноцелюлози, що є альтернативною нехарчовою сировиною для отримання паливного етанолу. Іншою потенційною сировиною для продукції етанолу є забруднений гліцерол, який утворюється як побічний продукт отримання біодизелю. Найперспективнішими мікроорганізмами для перетворення цукрів лігноцелюлози та гліцеролової фракції до етанолу є дріжджі.

*Ogataea (Hansenula) polymorpha* - один з найбільш термотолерантних видів дріжджів, який здатен утилізувати ксилозу і ферментувати її до етанолу. Ці метилотрофні дріжджі характеризуються наявністю функціональних пероксисом, які можуть займати до 80 % об'єму клітини під час росту на метанолі.

Експресія генів, які кодують ферменти пероксисом, індукується метанолом як джерелом карбону, повністю репресується під час росту на глюкозі й частково репресується за наявності ксилози.

Мета нашого дослідження - визначити роль пероксисом і пероксисомних ферментів у метаболізмі й алкогольній ферментації ксилози та гліцеролу у дріжджів *O. polymorpha*.

Основним ферментом пероксисом є алкогольоксидаза. Досліджено вплив посилення експресії гена *AOX1*, що кодує алкогольоксидазу, на продукцію етанолу з ксилози у дріжджів *O. polymorpha* в умовах алкогольної ферментації.

Встановлено, що отриманий рекомбінантний штам характеризується підвищеною продукцією етанолу з ксилози та гліцеролу. Також досліджено ефективність алкогольної ферментації ксилози у штамів *O. polymorpha* з пошкодженим біогенезом пероксисом, зокрема, у *rex3* мутанта, що не утворює цілісних пероксисом, і мутанта *rex11*, у якого пероксисоми внаслідок порушення поділу сягають великих розмірів. Встановлено, що унаслідок делеції гена *PEX11* у штамі дикого типу спостерігається підвищення продукції етанолу з ксилози в 1,5 разу на другу добу ферментації, натомість посилення експресії *PEX11* не має суттєвого впливу на продукцію етанолу з ксилози.

**Груба О.<sup>1,2</sup>, Стасик О. В.<sup>2</sup>, Стасик О. Г.<sup>1</sup>****ВПЛИВ АГМАТИНУ НА АВТОФАГІЙНУ ДЕГРАДАЦІЮ АЛЬФА-СИНУКЛЕЇНУ  
В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА  
ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ АРГІНІНУ**<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

olenater3@gmail.com

**Hruba O.<sup>1,2</sup>, Stasyk O. V.<sup>2</sup>, Stasyk O. G.<sup>1</sup>.** EFFECT OF AGMATINE ON AUTOPHAGIC DEGRADATION OF ALPHA-SYNUCLEIN IN EXPERIMENTAL MODEL OF PARKINSON DISEASE UNDER ARGININE DEFICIENCY. The purpose of our study was to identify the possibility of using arginine deficiency as an inducer of autophagic degradation of human recombinant alpha-synuclein in *Ogataea polymorpha* model strain and using agmatine as cell protector under stress conditions (such as amino acid deficiency). *O. polymorpha* recombinant strains, which constitutively express human alpha-synuclein gene (main trigger of neurodegenerative Parkinson's disease) conjugated with gene of green fluorescent protein (for protein visualization in model cells by fluorescent microscopy), were used in the work. Using Western-blot analysis it was shown that arginine deficiency together with agmatine, contributes to the partial degradation of alpha-synuclein.

Одним із ключових токсичних факторів етіології хвороби Паркінсона вважається білок альфа-синуклеїн: унаслідок невірної фолдингу його вторинна структура порушується, що призводить до утворення білкових агрегатів і нерозчинних філаментів, які є причиною відмирання нейронів центральної нервової системи. Механізми білкового гомеостазу нейронів, до яких належать протеасомний і автофагійний шляхи деградації, цілком можуть відіграти ключову роль у підтриманні безпечного рівня альфа-синуклеїну.

Мета дослідження - проаналізувати вплив різних концентрацій агматину та дефіциту аргініну як індукторів автофагійної деградації людського рекомбінантного альфа-синуклеїну в клітинах *O. polymorpha*.

У роботі використано ауксотрофний за аргініном модельний штаб *O. polymorpha*, який конститутивно експресував людський ген альфа-синуклеїну, кон'югований із геном зеленого флуоресцентного білка. Для індукції автофагійної деградації альфа-синуклеїну створювали дефіцит екзогенного аргініну і вводили агматин у концентрації 1-3 мМ.

За допомогою Вестерн-блот аналізу та флуоресцентної мікроскопії було досліджено часозалежний вміст альфа-синуклеїну та морфологію клітин модельного штаму за умов культивування на середовищах із дефіцитом аргініну та різними концентраціями агматину.

Встановлено, що у клітин, культивованих на повноцінному середовищі з агматиним (у концентрації 1-3 мМ) і на середовищі без аргініну з агматиним, протягом перших 20 год відбувалося незначне зниження вмісту рекомбінантного альфа-синуклеїну. За наявності аргініну цей ефект був більш вираженим. Проте на 30-ту год культивування на обох середовищах відбувалося підвищення рівня альфа-синуклеїну, що опосередковано вказувало на вичерпування агматину та зменшення його впливу на клітини модельного штаму.

Отже, можна зробити висновок, що агматин, як і дефіцит аргініну, - малоефективні індуктори деградації розчинного неагрегованого альфа-синуклеїну людини в клітинах модельного штаму дріжджів *O. polymorpha*.

**Видасов Н., Лихова О., Тетеріна С., Козак Т., Лупан В., Чехун В.Ф.**

#### **ЗНИЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ КЛІТИН РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ ДО ДОКСОРУБІЦИНУ В УМОВАХ ГІПЕРІНСУЛІНЕМІЇ**

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України  
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна  
vydasov.nazar@gmail.com*

**Vydasov N., Lykhova A., Teterina S., Kozak T., Lupan V., Chekhun V.F.** REDUCING THE SENSITIVITY OF BREAST CANCER CELLS TO DOXSORUBICIN IN HYPERINSULINEMIA. The problem of tumor cells drug resistance to the cytostatics has not yet been resolved. Features of the metabolic activity of the tumor cells and insulin are significant factors that affect the sensitivity of cells to chemotherapy. The aim of our study was to analyze the complex impact of high and normal concentrations of insulin and doxorubicin on viability and proliferation of new human breast cancer cell line BC-ML *in vitro*. The results shown that hyperinsulinemia condition significantly reduced sensitivity of BC-ML cells to doxorubicin.

Рак молочної залози (РМЗ) - одне з найпоширеніших типів злоякісних новоутворень у світі. Проблема медикаментозної резистентності пухлинних клітин до дії цитостатиків досі не вирішена. Вагомим фактором, що впливає на злоякісність і чутливість пухлинних клітин до хіміопрепаратів, є їхня метаболічна активність. Вона забезпечує гетерогенність популяції злоякісних клітин і, як наслідок, появу в пухлині резистентних до медикаментозної терапії субклонів. Надзвичайно важливим чинником, що впливає на метаболічні процеси в клітині, є інсулін (ІНС). Відомо, що пацієнти з цукровим діабетом (ЦД), головним клінічним проявом якого є інсулінорезистентність і, як наслідок, розвиток компенсаторної гіперінсулінемії, більш схильні до розвитку злоякісних новоутворень.

Окрім того, у пацієнтів з цукровим діабетом під час терапії протипухлинними засобами зафіксовані випадки гіперглікемії, що істотно знижувало ефективність лікування.

Мета нашого дослідження - проаналізувати вплив високих і нормальних концентрацій ІНС у комплексі з ДНК-пошкоджуючим агентом доксорубіцином (Д) на життєздатність і проліферацію клітин РМЗ людини нової клітинної лінії BC-ML *in vitro*. Лінія клітин BC-ML була отримана з плеврального випоту хворої на РМЗ IV стадії.

Клітини BC-ML характеризуються високим ступенем злоякісності, резистентністю до антиметаболітів і алкілюючих сполук та епітеліоподібною морфологією. Ми застосовували методи культури клітин.

Обробка клітин лінії BC-ML ІНС у концентраціях від 4000 до 125 нг/мл, що відповідає умовам гіперінсулінемії, супроводжувалась підвищенням проліферативної активності клітин на 15–30 % порівняно з контролем (клітини, які культивували без ІНС). Нижчі концентрації гормону не впливали на проліферацію клітин РМЗ. Культивування клітин BC-ML за наявності Д у концентраціях 8–0,5 мкг/мл призводило до пригнічення їхньої життєздатності та проліферації на 98–34 % порівняно з контрольними клітинами.  $IC_{50}$  для Д в монорежимі становило 0,6 мкг/мл. Комплексний вплив високих концентрацій ІНС і Д у концентраціях, що відповідають  $IC_{80}$  і нижче, на клітини BC-ML, зумовлював пригнічення цитотоксичного / цитостатичного ефектів протипухлинного препарату. Так, обробка клітин Д у концентрації 0,5 мкг/мл у монорежимі призводила до

загибелі 35 % клітин BC-ML, однак за наявності високих концентрацій ІНС (250–500 нг/мл) цитостатик у такій концентрації не впливав на життєздатність пухлинних клітин. Також було показано, що за умов комплексної дії Д та ІНС на клітини BC-ML показник  $IC_{50}$  зростає в 1,8 рази і становить 0,9 мкг/мл.

Отримані результати свідчать, що за умов гіперінсулінемії суттєво знижується чутливість клітин РМЗ лінії BC-ML до цитотоксичної / цитостатичної дії доксорубіцину.

Отже, порушення гормонального балансу - гіперінсулінемія й інсулінорезистентність, можуть бути, на нашу думку, однією з причин розвитку резистентності до медикаментозної терапії пухлинних клітин, а вирішення цієї проблеми є перспективним способом її подолання.

**Височанська М. В., Бесчасний С. П., Лебідь А. Є.**

#### ВПЛИВ РУТЕНІЮ НА АКТИВНІСТЬ МАСТОЦИТІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ

*Херсонський державний університет  
вул. Університетська, 27, м. Херсон, 73000, Україна  
office@ksu.ks.ua*

Рутеній, завдяки своїм особливим властивостям, здатний впливати на організм і на окремі системи органів: провокує розвиток алергічних реакцій, негативно впливає на слизові оболонки очей і дихальних шляхів.

Під впливом карбонільного комплексу металу трикарбонілхлор (гліцинат) рутенію (II) (CORM-3) відбувається релаксація судин. Ця сполука впливає на ниркові артерії, спричиняє продукцію в ендотелії речовин, які взаємодіють з СО або полегшують його активацію.

Синтезовані ендотеліальні фактори, такі як NO, здатні зв'язуватися з рутенієм і послаблювати зв'язок між карбонільними групами та перехідним металом молекули CORM-3, тим самим сприяючи вивільненню СО. Остання гіпотеза є актуальною, оскільки рутенієві комплекси мають високу спорідненість до NO в біологічних системах.

Мастоцити – це клітини імунної системи, які також перебувають у кістковому мозку. Ці клітини відіграють важливу роль у реалізації запального процесу, беруть участь в алергічних реакціях. Мастоцити мають значну кількість гранул у цитоплазмі, що містять різні медіатори, які беруть участь у реалізації алергічних реакцій і анафілаксії.

Було досліджено зміни властивостей тучних клітин за дії комплексної сполуки CORMs (диметрикарбонілдихлор рутенію (II)).

Дослідження проводили на білих мишах лінії BALB, статевозрілих самцях вагою 24–35 г. Експериментальні тварини перебували у звичайних умовах віварію на стандартному повноцінному харчуванні. Усі тварини були поділені на три групи по 6 мишей. Мишам внутрішньоочередово вводили свіжовиділену еритроцитарну масу в об'ємі 0,5 мл з метою імунізації, а також ДМСО (диметилсульфоксид) та інфузійний розчин NaCl. Протягом шести днів відбирали кров на дослідження. На шостий день зважували мишей, відбирали кров на ІФ-аналіз, робили мазки крові й кісткового мозку.

Згідно з одержаними даними, кількість промастоцитів у кістковому мозку зменшується після введення CORM-2 на різних фазах імунної відповіді. Так, в індуктивній фазі виявлено стимуляцію утворення промастоцитів, а у продуктивній – пригнічення диференціювання попередників тучних клітин і вивільнення попередників тучних клітин у периферичну кров.

CORM-2 впливає на морфологічний склад периферичної крові. Аналіз лейкограми показав, що під впливом введення CORM-2 в периферичній крові відбуваються зміни в лейкоцитарній формулі, а також з'являються такі клітини, як мастоцити і плазмоцити.

Це є ознаками того, що в організмі мишей розвивається запальна реакція. Поряд із тим, CORM-2 впливає на зсідання крові, підсилюючи останню.

**Вовколуп К., Ковалевська Л., Задворний Т., Лук'янова Н., Кашуба О.**

#### ПАТЕРН ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ UCKL1, AIP ТА PKN1 У СИРОВАТЦІ ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЗАЛЕЖНО ВІД МОЛЕКУЛЯРНОГО ПІДТИПУ

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України  
вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна  
katevov375@gmail.com*

**Vovkolup K., Kovalevska L., Zadvornyi T., Lukianova N., Kashuba E.** EXPRESSION PATTERN OF UCKL1, AIP AND PKN1 IN SERA OF BREAST CANCER PATIENTS, DEPENDING ON MOLECULAR SUB-TYPE. We have shown that expression pattern of UCKL1, AIP and PKN1 is different in molecular «luminal A», «luminal B», «Her2/neu-positive» subtypes of breast cancer. The most distinct is UCKL1 and AIP fold change, in comparison with PKN1 expression levels. These three genes might serve as putative prognostic markers.

Злоякісні новоутворення (рак) молочної залози (РМЗ) є одним із найчастіше діагностованих захворювань у жінок працездатного віку. Наразі у процесі встановлення діагнозу для РМЗ виділяють чотири основних молекулярних підтипи, які характеризуються специфічним патерном експресії рецепторів естрогену,

рецептором прогестерону і ERBB2 (Her2/neu) (Gong Y, 2017): i) «люмінальний А»; ii) «люмінальний В»; iii) «Her2/neu-позитивний»; iv) «тричі негативний», або «базальний». Вищевказані молекулярні підтипи широко використовують у клінічній практиці, особливо для призначення персоналізованої терапії (Prat A, et al. Breast 2015). Проте за дії хіміопрепаратів молекулярний профіль може змінюватися, тому пошук нових молекулярних маркерів є важливим і актуальним завданням. Як потенційні маркери молекулярних підтипів ми обрали гени UCKL1, AIP (ARA9, Хар2) і PKN1, що кодують протеїни, задіяні у синтезі РНК, контролі клітинної локалізації ядерних рецепторів і кінази, відповідно.

Мета проведеної роботи — визначити особливості експресії вищевказаних генів у сироватці крові хворих на РМЗ.

Досліджено зразки сироватки 23 хворих на РМЗ I–II стадії, які не отримували спеціального лікування до оперативного втручання. Всі експериментальні процедури було проведено відповідно до Гельсінської декларації WMA «Етичні принципи медичних досліджень, що залучають людей». Експресію аналізували методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції (к-ПЛР), використовуючи специфічні праймери та праймери до гена ТВР як контролю. Позаклітинну РНК виділяли зі сироватки крові, після чого проводили синтез кДНК і реакції к-ПЛР у двох повторах.

Нами було встановлено, що для зразків РМЗ типу «люмінальний А» характерним є підвищення рівня експресії генів UCKL1 і AIP приблизно у 400 і 300 разів, відповідно. Водночас рівень експресії гена PKN1 знижувався у 3–4 рази порівняно з величинами, встановленими для здорових донорів. У хворих із РМЗ молекулярного підтипу «Her2/neu-позитивний» рівень експресії генів UCKL1 і AIP підвищувався у 5000 і 7000 разів; гену PKN1 була притаманна вища експресія у 1000 разів. Схожу картину спостерігали у випадках «люмінального типу В», проте підвищення рівнів експресії цих трьох генів були у 30, 20 і 2 рази, відповідно.

Таким чином, визначення рівня експресії UCKL1, AIP і PKN1 у сироватці хворих на РМЗ можна буде застосовувати як додатковий критерій для характеристики молекулярного підтипу пухлини та прогнозу перебігу захворювання. Проте це лише попередні результати, для підтвердження яких необхідно провести аналіз на більшій вибірці, а також порівняти рівні експресії генів у сироватці крові із вмістом відповідних протеїнів у зразках пухлин.

Роботу виконано за підтримки цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України 2017–2021 рр. «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злоякісних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонозалежних пухлин» (№ держреєстрації 0117U002034) під керівництвом академіка В.Ф. Чехуна.

**Дажук А., Хіта О., Рудницька О.**

**ЕКСПРЕСІЯ ЯДЕРНИХ ГЕНІВ, ЯКІ КОДУЮТЬ МІТОХОНДРІАЛЬНІ ПРОТЕЇНИ,  
У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 ЗА УМОВ ПРИГНІЧЕННЯ IRE1**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України  
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01030, Україна*

*ННЦ “Інститут біології та медицини” Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна  
ad-5@ukr.net*

**Dazhuk A., Khita O., Rudnytska O.** EXPRESSION OF NUCLEAR GENES ENCODING MITOCHONDRIAL PROTEINS IN U87 GLIOMA CELLS WITH IRE1 KNOCKDOWN. It is possible that changes in the expression level of nuclear genes encoding mitochondrial proteins ME2, MDH2, IDH2, SDHB, SDHD and GOT2 reflects the metabolic reprogramming of mitochondria at endoplasmic reticulum stress and hypoxia and correlates with decreased proliferation rate of glioma cells with IRE1 knockdown.

Первинні внутрішньочерепні злоякісні пухлини виявляють в Україні в середньому у чотирьох-п’яти осіб на 100 тис. населення, і їхня частота зростає з віком. На частку гліом припадає близько половини злоякісних пухлин головного мозку. Гліобластома поєднує в собі риси найзлоякісніших новоутворень, включаючи високий рівень проліферації, ангіогенезу й інвазивності.

Важливими для росту гліом факторами є стрес ендоплазматичного ретикулуму та гіпоксія, які змінюють рівень експресії тисяч генів і цим забезпечують злоякісний ріст, а тому пошук нових генів-мішеней спрямований переважно на сигнальні шляхи цього стресу та гіпоксії. Мітохондрії в цьому плані є особливим об’єктом, адже це поліфункціональні органели, які контролюють не лише енергетику й апоптоз, а і процеси проліферації.

Метою роботи було дослідити вплив гіпоксії на експресію ядерних генів, що кодують мітохондріальні протеїни, у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення IRE1 (inositol requiring enzyme-1), який є центральним медіатором стресу ендоплазматичного ретикулуму і контролює процеси проліферації та росту пухлин.

Встановлено, що гіпоксія специфічно знижувала експресію генів малатдегідрогенази 2 (MDH2), малікензиму 2 (ME2), мітохондріальної глутаміно-оксалооцтової трансамінази 2 (GOT2) та субодиноці В сукцинатдегідрогенази (SDHB) у контрольних (трансфікованих вектором без вставки) клітин гліоми. Водночас рівень експресії генів NADP<sup>+</sup>-залежної мітохондріальної ізоцитратдегідрогенази 2 (IDH2) та субодиноці D сукцинатдегідрогенази (SDHD) у досліджуваних клітинах за умов гіпоксії помітно не змінювався.



Встановлено, що пригнічення функції сигнального ензиму IRE1 у клітинах гліоми лінії U87 послаблювало ефект гіпоксії на експресію генів *ME2*, *GOT2* і *SDHB*, а також робило чутливим до гіпоксії ген *IDH2*. Експресія всіх досліджених генів була залежною від IRE1 опосередкованого сигналювання під час стресу ендоплазматичного ретикулуму, оскільки пригнічення IRE1 істотно знижувало їхню експресію за умов гіпоксії, за винятком гена *IDH2*, рівень експресії якого стрімко зростає.

Таким чином, зміни рівня експресії ядерних генів, які кодують протеїни ME2, MDH2, IDH2, SDHB, SDHD та GOT2, можливо, віддзеркалюють метаболічне перепрограмування мітохондрій за умов гіпоксії та стресу ендоплазматичного ретикулуму, опосередкованого IRE1 сигнальним шляхом, і корелюють зі зниженням проліферації клітин гліоми за умов пригнічення функції ензиму IRE1.

**Димура С.А.<sup>1,2</sup>, Протопопов М.В.<sup>2</sup>, Бджола В.Г.<sup>2</sup>, Ярмолюк С.М.<sup>2</sup>**  
**IN SILICO ВИЗНАЧЕННЯ НОВИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ МІШЕНЕЙ**  
**У KLEBSIELLA QUASIPNEUMONIAE**

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 60, м. Київ, 02000, Україна

<sup>2</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна  
sophiyad1999@gmail.com

**Dymura S.A., Protopopov M.V., Bdzhola V.G. and Yarmoluk S.M. IN SILICO IDENTIFICATION OF NOVEL MOLECULAR DRUG TARGETS OF KLEBSIELLA QUASIPNEUMONIAE.** The main aim of this study was to identify novel potential drug targets of *Klebsiella quasipneumoniae* ATCC 700603. Multistep bioinformatic proteome analysis was performed to find molecular targets for further drug design research. As a result, two potential drug targets - type-1 fimbrial protein subunit A and phospholipid-binding lipoprotein MlaA were identified. Three-dimensional structures of these proteins were built with homology modeling.

*Klebsiella quasipneumoniae* – грамнегативна бактерія, що спричиняє низку важких опортуністичних захворювань: запалення легень, сепсис печінки, інфекції сечовивідних шляхів і т.п.

Захворювання, спричинені цим патогеном, характеризуються високою смертністю, зокрема, упродовж 2014–2017 рр. у лікарні при медичному університеті та в міжнародному медичному центрі міста Сайтами (Японія) померли 11 % пацієнтів унаслідок хвороб, асоційованих із *K. quasipneumoniae*.

У 2000 р. виявили, що штам *K. quasipneumoniae* ATCC 700603 є мультирезистентним до антибіотиків із оксиміно-β-лактамною функціональною групою (ампіциліну, цефподоксиму та ін.).

З огляду на те, що з 1968 і до 2017 рр. не запропоновано нових класів антибіотичних засобів для грамнегативних патогенів, а швидкість виникнення резистентності зростає, пошук нових мішеней для раціональної розробки протимікробних засобів є актуальним завданням.

Метою цієї роботи був пошук нових білків-мішеней і моделювання їхніх тривимірних структур для подальшого раціонального дизайну біологічно активних сполук проти *K. quasipneumoniae*. Для досягнення мети були застосовані інструменти лінійної та структурної біоінформатики.

За допомогою багатостадійного аналізу протеому *K. Quasipneumoniae* (що налічує понад 5000 білків) було визначено 8 білків, що не гомологічні до людських білків і водночас є важливими для виживання бактерії. Проаналізувавши локалізацію цих білків у клітині, як найперспективніші були вибрані дві нові мішені проти *K. quasipneumoniae*: ліпопротеїн MlaA та субодиниця А фімбрилярного протеїну I типу. Для цих білків були побудовані моделі просторової структури методом гомологічного моделювання.

Таким чином, у ході дослідження було проаналізовано протеом патологічного штаму бактерії *K. quasipneumoniae* ATCC 700603, знайдено два білки, що є потенційними мішенями для розробки протимікробних препаратів, а також запропоновано моделі їхньої тривимірної структури.

Отримані результати будуть використані для раціонального дизайну сполук із антимікробною активністю.

**Дубовцева Л., Рижикова М., Гарманчук Л., Островська Г.**

**ЗМІНА МІГРАЦІЙНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КЛІТИН РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ ЛІНІЇ MCF-7 ЗА ВПЛИВУ**  
**4-[(E)-2-ФЕНІЛЕТЕНСУЛЬФОНАМІДО]-N-ГІДРОКСИБУТАНАМІДУ**

ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна  
lidadubovceva@gmail.com

**Dubovtseva L., Ryzhykova M., Garmanchuk L., Ostrovska G. CHANGES IN MIGRATION POTENTIAL OF MCF-7 BREAST CANCER CELL LINE UNDER INFLUENCE OF 4-[(E)-2-PHENYLETHENESULFONAMIDO]-N-HYDROXYBUTANAMIDE.** The aim of the work was to investigate breast cancer cell line adhesion and migration after introduction of novel hybrid compound 4-[(E)-2-phenylethanesulfonamido]-N-hydroxybutanamide (PSHA). It was showed that PSHA decreases cell invasion potential and also modifies the adhesion of cells.

Однією із найперспективніших стратегій розробки різномішенево-орієнтованих протиракових терапевтичних засобів є використання потенційного лікарського засобу, що містить два або більше фармакофорів (функціональних груп), що відповідно діють різними механізмами (Rakesh et al., 2018).

У наших нещодавніх дослідженнях (Дубовцева та ін., 2019) визначено ефективність нової гібридної сполуки 4-[(E)-2-фенілетенсульфонамідо]-N-гідроксибутанаміду (4-[(E)-2-phenylethanesulfonamido]-N-hydroxybutanamide) (PSHA) і зафіксовано дію цієї сполуки як антипроліферативного й антиметастатичного агента.

Збільшення кількості прикріплених клітин в обох - сфероїдній і моношаровій - клітинних популяціях стало підставою для проведення додаткових досліджень щодо міграційної активності клітин.

Метою роботи було проаналізувати міграційний потенціал клітин раку грудної залози за дії 4-[(E)-2-фенілетенсульфонамідо]-N-гідроксибутанаміду.

Міграційний потенціал клітин досліджували за допомогою тесту на заростання подряпани (Liang et al., 2007). Зміни міграції клітин за додавання сполуки визначали за допомогою спеціального пристрою – камери Бойдена (Chen, 2005).

Виявлено, що досліджувана сполука пригнічує міграцію клітин у зону заростання подряпани. Так, через 24 год культивування у групі після впливу цієї сполуки кількість клітин у «раневій» поверхні була менша, ніж у відповідному контролі.

За результатами тесту на міграцію в камері Бойдена встановлено, що кількості клітин, які мігрували, в контролі та за дії сполуки відрізняються майже удвічі. Дані результати корелюють з отриманими раніше, де на моделі *in vivo* щодо високометастазуючого штаму перещеплюваної карциноми легені Льюїса зафіксовано значний протиметастатичний ефект цієї речовини (Zborovskii et al., 2018).

Виявлено достовірне збільшення адгезії в моношарі та клітинних сфероїдах лінії MCF-7, а також пригнічення міграційного потенціалу трансформованих клітин.

Отримані експериментальні дані свідчать, що вплив сполуки 4-[(E)-2-фенілетенсульфонамідо]-N-гідроксибутанамід зумовлює зниження міграційного потенціалу моношарової культури клітин, а це опосередковано вказує на пригнічення інвазивності.

Такі висновки підтверджують перспективність подальшого дослідження і можливість використання цієї сполуки як антиметастатичного засобу.

#### **Криніна О.І., Колибо Д.В.**

### **СТВОРЕННЯ І ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБІНАНТНИХ ПОХІДНИХ HB-EGF З МУТАЦІЄЮ В ГЕПАРИНОЗВ'ЯЗУВАЛЬНОМУ ДОМЕНІ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ РЕЦЕПТОРНОЇ ФУНКЦІЇ HB-EGF**

*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України  
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01030, Україна  
olyakrynina@gmail.com*

**Krynina O.I., Kolybo D.V.** OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF RECOMBINANT HB-EGF DERIVATIVES WITH MUTATIONS IN HEPARIN-BINDING DOMAIN FOR STUDY OF HB-EGF RECEPTOR FUNCTION. To study the receptor function of human HB-EGF two variants of gene encoding growth factor with different mutations in the heparin-binding domain were cloned into eukaryotic expression vector pEGFP-N1 and prokaryotic vector pGEX-4T-1. Both mutant HB-EGF derivatives can interact with the subunit B of the diphtheria toxin (DT), and the affinity constant of HB-EGF<sub>mut</sub> is closer to the corresponding value of normal HB-EGF compared to HB-EGF<sub>del</sub>. The cellular model demonstrated that subunit B of DT interacts more intensely with mutant form of HB-EGF.

Подібно до епідермального фактора росту, гепаринозв'язувальний ростовий фактор (HB-EGF) є представником родини епідермальних факторів росту. Мембранозаякорена форма HB-EGF (proHB-EGF) має специфічну здатність до рецепції дифтерійного токсину (ДТ) - основного фактора патогенності збудника дифтерії *Corinebacterium diphtheriae*.

Гепаринозв'язувальна ділянка ростового фактора розташована поряд із EGF-подібним доменом, який відповідає за взаємодію з ДТ, тому може сприяти асоціації рецептора з ДТ і мати значення у забезпеченні стабільності цієї взаємодії. Метою роботи було дослідити роль гепаринозв'язувальної ділянки HB-EGF у здатності взаємодіяти із рекомбінантним похідним дифтерійного токсину – субодиницею В ДТ (SbB).

На першому етапі було створено генетичні конструкції на основі еукаріотичного експресійного вектора pEGFP-N1 та прокариотичного вектора pGEX-4T-1, які дають змогу експресувати HB-EGF з різними мутаціями в гепаринозв'язувальному домені. Було отримано два варіанти мутацій у гені ростового фактора: з делецією гепаринозв'язувального домену (HB-EGF<sub>del</sub>) та із заміною позитивно заряджених амінокислот на аланін (HB-EGF<sub>mut</sub>). У прокариотичній системі експресії було отримано ці протеїни та проведено їхнє порівняння з нормальним HB-EGF за допомогою імуноферментного аналізу для визначення констант афінності до рекомбінантної SbB ДТ. Було виявлено, що мутантні похідні HB-EGF здатні взаємодіяти зі субодиницею В ДТ, проте значення константи афінності HB-EGF<sub>mut</sub> є ближчим до відповідного значення нормального HB-EGF, порівняно з HB-EGF<sub>del</sub>. Таким чином, мутантна форма краще зберігає нативну конформацію HB-EGF, що робить її більш зручною моделлю для дослідження рецепторної функції HB-EGF на клітинній моделі.

У подальшому отримані конструкції на основі вектора pEGFP-N1 застосовували для трансфекції клітин лінії MDA-MB-231 із нокаутом гена HB-EGF, щоб отримати популяції клітин, що експресують флуоресцентно-мічений нормальний чи мутантний proHB-EGF на поверхні клітин.

Ці клітини інкубували з різними концентраціями mCherry-SbB, після чого аналізували за допомогою протокової цитофлуориметрії. Було виявлено, що клітини, які експресували мутантну форму HB-EGF,

характеризувалися інтенсивнішою флуоресценцією порівняно з нормальною формою.

Отримані результати свідчать про те, що взаємодія HB-EGF із гепарансульфат протеогліканами на поверхні клітини може впливати на конформацію всієї молекули ростового фактора та частково зменшувати його доступність для ліганду.

Отже, гепаринозв'язувальна ділянка HB-EGF не є визначальною для взаємодії з ДТ, зате може бути важливою для правильної організації ліганд-рецепторного комплексу.

**Матис І.<sup>1,2</sup>, Грушаник Н.<sup>1,2</sup>, Стасик О. В.<sup>2</sup>, Стасик О. Г.<sup>1</sup>**

**РОЛЬ ПОЗАКЛІТИННОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ГЛЮКОЗИ У ПІДТРИМАННІ  
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ  
В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА**

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

<sup>2</sup> Інститут біології клітини НАН України  
вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна  
matys.iryana.16@gmail.com

**Matys I., Hrushanyk N., Stasyk O. V., Stasyk O. G. ROLE OF EXTRACELLULAR GLUCOSE CONCENTRATION IN THE MAINTENANCE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN EXPERIMENTAL MODEL OF PARKINSON'S DISEASE.** The aim of our study was to analyze the effect of excess and deficiency of extracellular glucose on prooxidant-antioxidant system of *Ogataea polymorpha* yeast model strain, constitutively expressed human alpha-synuclein conjugated to green fluorescent protein. We observed that glucose deficiency caused accumulation of ROS and products of oxidative modification of proteins and lipids, increased SOD activity in cells of wild-type strain in late log-phase. 0,1 % Glucose in culture medium caused increasing activity of CAT and SOD, but decrease the content of reduced glutathione and prooxidants in the cells of model strain.

Хвороба Паркінсона (ХП) – це повільно прогресуюче хронічне мультифакторне захворювання нервової системи, основні симптоми якого ідентифікуються лише після загибелі 50-80 % дофамінергічних нейронів чорної речовини (*substantia nigra*) проміжного мозку. Однією з причин розвитку ХП є аномальна агрегація білка  $\alpha$ -синуклеїну, що індукуює формування цитоплазматичних нейрональних включень – тілець Леві. Запускати процес агрегації альфа-синуклеїну можуть вільні радикали, які постійно утворюються внаслідок порушення роботи дихального ланцюга мітохондрій.

Відомо, що у старіючих нейронів спостерігається пригнічення транспорту гексоз і гіпометаболізм глюкози. Це перший і визначальний етап старіння мозку, якому властиві дисфункція мітохондрій і порушення біоенергетичного балансу.

Мета роботи - проаналізувати вплив надлишку та дефіциту позаклітинної глюкози на стан прооксидантно-антиоксидантної системи клітин модельного штаму дріжджів *O. polymorpha* із конститутивною експресією гена альфа-синуклеїну людини, кон'югованого із геном зеленого флуоресцентного білка. Аналіз здійснювали у двох часових точках (15 і 40 год), які відповідали ранній і пізній логарифмічній фазі росту культури.

За допомогою флуоресцентного барвника 2',7'-дихлорфлуоресцеїну діацетату було проаналізовано наявність активних форм кисню (АФО): найвищий вміст спостерігали у клітин штаму дикого типу, культивованого за умов лімітування глюкози, в обох часових точках.

Рівні показників прооксидантної ланки (карбонільні групи білків, ТБК-позитивні продукти) зростали у клітин штаму дикого типу зі збільшенням часу культивування на середовищі з дефіцитом глюкози, а клітини модельного штаму дали протилежний ефект. З такою ж динамікою відбувалися зміни вмісту відновленого й окисненого глутатіону в обох досліджуваних штамів. У пізній логарифмічній фазі активність супероксиддисмутази (СОД) значно зростала у клітин штаму дикого типу, а у клітин модельного штаму, навпаки, трохи зменшувалася. За умов дефіциту глюкози штам дикого типу характеризувався підвищеним рівнем відновленого глутатіону й активності СОД, при цьому активність каталази (КАТ) знижувалася.

Отже, у клітин штаму дикого типу зі збільшенням тривалості культивування зростала активність СОД, однак також накопичувалися АФО та продукти окисної модифікації білків і ліпідів. У клітин модельного штаму у пізній логарифмічній фазі зростала активність КАТ і СОД, при цьому знижувалися рівні відновленого глутатіону, карбонільних груп білків і ТБК-позитивних продуктів.

**Пахаренко М.<sup>1</sup>, Лагоднюк І.<sup>1</sup>, Стародуб Г.<sup>2</sup>, Третяк Н.<sup>2</sup>, Білько Н.<sup>1</sup>**

**МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОПОЕТИЧНИХ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ ХВОРИХ  
НА МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНИЙ СИНДРОМ У КУЛЬТУРІ КЛІТИН *IN VITRO***

<sup>1</sup> Національний університет «Києво-Могилянська академія»  
вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04070, Україна

<sup>2</sup> ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН»  
margaret.pakharenko@gmail.com

**Pakharenko M., Lahodniuk I., Starodub H., Tretiak N., Bilko N. MORPHOLOGICAL FEATURES OF HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS OF PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME IN CELL CULTURE *IN VITRO*.** Myelodysplastic syndrome is a group of heterogeneous clonal diseases characterized by inef-

fective hematopoiesis, dysplasia, and an increased risk of transformation to acute myeloid leukemia. The bone marrow of 22 patients with MDS (refractory anemia with excess blasts I) were cultured for 14 days in semisolid agar medium. It has been found that bone marrow progenitor cells of patients with MDS have a reduced ability to colony and cluster formation, as well as the presence of cellular aggregates of altered shape and composition (with fibroblast-like cells).

Мієлодиспластичний синдром (МДС) – група гетерогенних клональних захворювань, в основі яких лежить ураження гемопоетичної стовбурової клітини або її клітин-попередників (Глузман, 2018). МДС характеризується неефективним гемопоезом, дисплазією однієї або кількох гілок кровотворення та підвищеним ризиком переходу в гостру мієлоїдну лейкемію. Також спостерігається підвищена чутливість клітин-попередників до апоптозу, що призводить до цитопенії. Мета цієї роботи - визначити особливості гемопоетичних клітин-попередників під час МДС у культурі з напіврідкого агару *in vitro*.

Досліджували кістковий мозок (КМ) 22 пацієнтів із МДС, а саме рефрактерною анемією із надлишком бластів (РАНБ I). Діагноз встановлювали на підставі клінічних даних і лабораторних досліджень відповідно до міжнародної статистичної класифікації захворювань 10-го перегляду (з уточненням від 2008 р.).

КМ розділяли у градієнті щільності Nystoraque (1,077 г/мл) (Sigma, США), трикратно відмивали у PBS (Sigma, США) та культивували протягом 14 діб за умов абсолютної вологості, 5% CO<sub>2</sub> та 37°C у середовищі DMEM (Sigma, США) з додаванням 20% FBS (Sigma, США), 1% антибіотиків (пеніцилін/стрептоміцин) і L-глутаміну (Gibco, США), 3,3% агару (Difco, США) і 50 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактора (PeproTech, США). Отримані клітинні агрегати досліджували під інвертованим мікроскопом (Olympus CK-2, Японія) із подальшим забарвленням за Паппенгеймом.

Аналіз 22 зразків кісткового мозку хворих на МДС (РАНБ I) продемонстрував знижену здатність до колоніє- та кластероутворення порівняно з контролем (3,1±0,8 та 5,2±1,1 на 1x10<sup>5</sup> експлантованих клітин і 39,2±3,1 та 64,5±2,4 на 1x10<sup>5</sup> експлантованих клітин, відповідно).

Крім того, в невеликих кількостях виявляли колонії з фібробластоподібних клітин (1,2±0,1 на 1x10<sup>5</sup> експлантованих клітин).

Також необхідно зазначити, що всі морфологічні клони вирізнялися неправильною формою порівняно з клітинними агрегатами за умов нормального кровотворення.

Отже, клітини-попередники кісткового мозку пацієнтів з МДС мають знижену здатність до колоніє- та кластероутворення, а їхні клітинні агрегати мають змінені форму та склад.

**Протопопов М.В., Вдовін В.С., Лукашов С.С., Старосила С.А., Бджола В.Г., Ярмолюк С.М.**

**АУРОНИ ЯК ІНГІБІТОРИ ПРОТЕЇНкіНАЗИ СК2 ЛЮДИНИ**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, м. Київ, 03143, Україна  
mykola.protopopov@gmail.com*

**Protopopov M.V., Vdovin V.S., Lukashov S.S., Starosyla S.A., Bdzholo V.H., Yarmoluk S.M.** AURONES AS HUMAN PROTEIN KINASE CK2 INHIBITORS. Protein kinase CK2 is a constitutively active highly conserved serine/threonine kinase, which is evaluated drug target toward oncology diseases. Herein, we report the design, synthesis, SAR studies and optimization of 2-benzylidenebenzofuran-3-ones (aurones) as a new class of nanomolar ATP-competitive inhibitors of CK2. The best inhibitor in this study BFO13 has LipE value 4.9 with IC<sub>50</sub> 3.6 nM.

Протеїнкіназа СК2 – це убіквістична, конститутивно-активна, серин/треонінова протеїнкіназа.

До субстратів СК2 належать близько 500 білків. СК2 розглядають як потенційну мішень для розробки лікарських засобів проти багатьох захворювань. Зокрема, протеїнкіназа СК2 є валідованою мішенню для розробки протиракових засобів.

Незважаючи на високий рівень зацікавленості у розробці інгібіторів протеїнкінази СК2, на стадії клінічних досліджень перебуває лише один інгібітор – CX-4945. Таким чином, розробка нових класів інгібіторів СК2 є актуальним завданням медичної хімії.

Головна мета нашого дослідження – розробка нових інгібіторів СК2 серед похідних бензоліденбензофуран-3-ону (аурону) й оптимізація їхніх фізико-хімічних властивостей.

Для цього було синтезовано 51 похідне аурону. За результатами біохімічного тестування 11 сполук мали IC<sub>50</sub> в наномолярному діапазоні значень. Значення ліпофільної ефективності (LipE) найефективнішої сполуки BFO4 - 4,0 за IC<sub>50</sub> 7,9 нМ.

З метою покращення ліпофільності обраних сполук на основі аналізу залежності активності сполук від їхньої структури було синтезовано 86 нових похідних аурону. Серед них виявлено 10 сполук із наномолярними значеннями IC<sub>50</sub>. Значення LipE сполуки BFO13 дорівнювало 4,9 за IC<sub>50</sub> 3,6 нМ, що робить її ефективним інгібітором СК2.

Таким чином, у ході дослідження встановлено, що похідні аурону виявляють високу активність щодо протеїнкінази СК2, а знайдені сполуки є перспективними для розробки на їхній основі лікарських засобів.

**Сарай І. А.<sup>1,2</sup>, Стасик О. В.<sup>2</sup>, Стасик О. Г.<sup>1</sup>**

**ВПЛИВ СПЕРМІДИНУ НА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ РЕКОМБІНАНТНОГО ШТАМУ ДРІЖДЖІВ *OGATAEA POLYMORPHA* З НАДЕКСПРЕСІЄЮ ЛЮДСЬКОГО АЛЬФА-СИНУКЛЕЇНУ**

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

*ivanna.sarai.bee@gmail.com*

**Sarai I., Stasyk O. V., Stasyk O. G.** EFFECT OF SPERMIDINE ON ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM OF RECOMBINANT STRAIN *OGATAEA POLYMORPHA* WITH OVEREXPRESSION OF HUMAN ALPHA-SYNUCLEIN. The purpose of our research was to investigate how different concentrations of spermidine affect the prooxidant-antioxidant balance in cells of *Ogataea polymorpha* model strain cultured under carbon source deficiency. We noticed that introduction of spermidine into the cultural medium at 2 mM concentration in general has a negative effect on the growth characteristics of the yeast. Though when spermidine was added to the cultural medium at concentrations of 1 mM and 2 mM, we observed that the content of reactive oxygen species in cells both of model and wild type strains was lower than that of cells that were cultured with glucose deficiency without polyamine addition. Also we analyzed other indicators of oxidative stress.

Відомо, що порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу посідає одну із ключових позицій у перебігу хвороби Паркінсона (ХП).

Адже серед первинних молекулярних змін у дофамінергійних нейронах, що дегенерують, виділяють збільшення вмісту активних форм кисню (АФО) і, як наслідок, окисну модифікацію ліпідів і білків, зокрема, альфа-синуклеїну, який є основним компонентом тілець Леві.

У свою чергу, ці дефекти призводять до нейрозапалення, а також до дисфункції мітохондрій, що посилює вироблення АФО і врешті призводить до загибелі нейронів. Розуміння зв'язків між процесами, що відбуваються у нейронах під час ХП, з оксидативним стресом як можливим загальним знаменником, що лежить у їхній основі, необхідне для розробки кращих терапевтичних стратегій, наприклад, із використанням речовин, які мають антиоксидантні властивості.

Мета нашого дослідження - проаналізувати вплив різних концентрацій спермідину, відомого своїм нейропротекторним потенціалом і антиоксидантними властивостями, на прооксидантно-антиоксидантний баланс у клітинах модельного штаму *Ogataea polymorpha*. Клітини культивували за дефіциту джерела карбону (0,1 % глюкози в ростовому середовищі), в умовах надпродукції АФО і підвищеної активності компонентів антиоксидантного захисту.

Було встановлено, що за наявності в культуральному середовищі спермідину концентрацією 1 mM та 2 mM вміст АФО в клітинах був меншим, ніж у тих, що культивувалися в умовах дефіциту глюкози без додавання поліаміну. Внесення у середовище спермідину концентрацією 1 mM зумовлювало підвищення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів лише у модельного штаму, тоді як вміст карбонільних груп, навпаки, був нижчим, ніж у клітин обох штамів, вирощених без додавання поліаміну. За додавання у середовище спермідину концентрацією 2 mM відбувалося зниження активності каталази та підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів у клітинах обох штамів, а також зростання активності СОД і вмісту карбонільних сполук основного та відновного характеру у клітин дикого типу.

Таким чином, спермідин дозозалежно впливав на показники антиоксидантного захисту, спричинюючи протилежні ефекти у обох досліджуваних штамів.

**Fedorko Yu.<sup>1,2</sup>, Stasyk O. V.<sup>2</sup>, Stasyk O. G.<sup>1</sup>**

**EFFECT OF EXOGENOUS SPERMIDINE AND ARGININE DEFICIENCY ON AUTOPHAGIC DEGRADATION OF HETEROLOGOUS HUMAN ALPHA-SYNUCLEIN IN *OGATAEA POLYMORPHA* STRAIN**

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

*someone35719@gmail.com*

One of the main causes of neurodegenerative diseases is the aging, associated with inhibition of autophagy, which supports cellular homeostasis by removing aggregates of proteins and damaged organelles. This process is the most crucial for neurons because they do not proliferate and are unable to clear of part of protein aggregates during division, unlike other cells.

Mechanisms of protein homeostasis, to which proteasomal and autophagic lysosomal pathways of degradation are belonged, may play a crucial role in maintaining balanced "non-toxic" levels of alpha-synuclein. Today, a number of factors have been identified that induce autophagy and help to clear cells from abnormal proteins aggregates and damaged organelles. These factors are rapamycin, carbon and nitrogen sources deficiency (including glucose and amino acids), polyamines (spermidine). It is well known that spermidine plays an important role in maintaining of normal

brain functions and protecting against neurodegeneration. Spermidine protects against age-related memory loss and loss of motor activity by increasing autophagy and “rejuvenating” synaptic sites.

The purpose of our studies was to investigate the possibility of using exogenous spermidine and arginine deficiency as inducers of autophagic degradation of recombinant human alpha-synuclein in model strains of the yeast *Ogataea polymorpha*. In our work, we used a recombinant *O. polymorpha* strain with a deleted argininosuccinate synthetase gene, and constitutively expressed human alpha-synuclein gene conjugated to a gene of green fluorescent protein. We used Western blot analysis, fluorescence microscopy, and reverse transcription PCR to clarify the time-dependent alpha-synuclein content and cell morphology of the strain under culturing at exogenous arginine limiting, and with addition of exogenous spermidine, and to analyze expression levels of *ATG1*, *ATG6*, *ATG7* and *ATG8*, that are involved in autophagy.

It was found that spermidine (in concentration 4 mM) added to culture medium, which contained 1 % glucose and 60 mg/l arginine, did not cause a marked decrease in the content of heterologous alpha-synuclein in yeast cells. However, there was an abnormal increase in the size of vacuoles, which indirectly indicated activation of autophagy. Moreover, arginine deficiency contributed to partial degradation of heterologous alpha-synuclein. Analysis of the expression levels of *ATG1*, *ATG6*, *ATG7*, and *ATG8* genes revealed that spermidine significantly affected the expression only of *ATG6* in model *O. polymorpha* strain. Therefore, our next studies will focus on searching optimal concentration of spermidine which will be non-toxic for yeast cells and effective for induction of degradation of non-aggregated forms of alpha-synuclein.

**Shcherbina V., Gordiienko I. and Shlapatska L.**

CD150 AND CD180 RECEPTORS ARE NEGATIVE REGULATORS OF IL-10  
EXPRESSION AND SECRETION IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA B CELLS

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine  
45, Vasylkivska St. Kyiv, 03022, Ukraine  
L\_knolodniuk@ukr.net*

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) progression is strongly dependent on combination of extracellular signals obtained by malignant B cells in local tissue microenvironment. High level of cytokine expression in B cell malignancies is associated with disease progression, drug resistance and unfavourable clinical outcome. Based on above, finding a way to downregulate cytokines expression levels is a prominent direction to control CLL progression. Important prognostic value for CLL is expression levels of immunosuppressive IL-10 and anti-inflammatory IL-6 by malignant B cells. It was shown that CLL patients are characterized by higher levels of IL-6 and IL-10 in plasma compare to healthy donors. Besides, CLL patients with high IL-6 and IL-10 levels have lower overall survival rates and activation of interleukin expression correlates with poor prognosis. Cell surface receptors are potential candidates for regulation biological properties of CLL B cells. Our previous data show that CD150 and CD180 receptors are coexpressed and colocalized on the cell surface of CLL B cells. In the case of CD150 and CD180 absence on the cell surface both receptors were detected in the cytoplasm of malignant B cells. It was shown that CD150 and CD180 cell surface receptors' expression on CLL B cells correlate with mutation status of *IGHV* genes that reflects favourable clinical outcome for patients. Therefore, the aim of our study was to explore whether CD150 and CD180 could be involved in regulation of IL-6 and IL-10 expression and secretion in CLL B cells.

The study was performed on peripheral blood mononuclear cells isolated from 20 previously untreated patients with CLLs. Flow cytometry, receptor's ligation using mAb, qPCR, western blot assay, ELISA and statistical analysis were used in this study.

Based on flow cytometry analysis we selected for our research 10 CLL cases with simultaneous expression of CD150 and CD180 receptors (CD150<sup>+</sup>CD180<sup>+</sup>) on B cells and 10 CLL cases with CD150<sup>-</sup>CD180<sup>-</sup> B cells' phenotype. Basal IL-10 mRNA expression level was significantly lower in CD150<sup>+</sup>CD180<sup>+</sup> B cells compare to this in CD150<sup>-</sup>CD180<sup>-</sup> cells. However, it was no any difference in IL-6 mRNA expression between investigated groups. Although the basal protein levels of both IL-6 and IL-10 were lower in CD150<sup>+</sup>CD180<sup>+</sup> CLL B cells. *Ex vivo* ligation of CD150 and CD180 receptors alone and in combination in CLL B cells led to significant downregulation of IL-6 and IL-10 mRNA expression level. Considering the fact that cytokines interact with other cells remotely we checked the secretion levels of IL-6 and IL-10 after CD150 and CD180 ligation. We showed that CD150 and CD180 ligation *ex vivo* in CLL B cells did not change the IL-6 concentration in culture medium but IL-10 secretion level was downregulated up to 2 times compare to control. To determine the possible mechanism how CD150 and CD180 affect the IL-10 expression we paid our attention on NF-κB signalling pathway for which the IL-10 is target gene. We found that simultaneous ligation of CD150 and CD180 in CLL B cells *ex vivo* led to decreasing in the phosphorylation level of NF-κB inhibitor molecule (IκBα) that may be possible mechanism to block the NF-κB signalling pathway.

Thus, based on our results, CD150 and CD180 cell surface receptors are the negative regulators of immunosuppressive IL-10 expression and secretion in CLL B cells. These data allow us to suggest that CLL with CD150<sup>+</sup>CD180<sup>+</sup> phenotype of malignant B cells could possess more favourable clinical outcomes than CD150<sup>-</sup>CD180<sup>-</sup> CLL.

## МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

**Буряченко С. В., Стегній Б. Т.**

ЗАСТОСУВАННЯ ПРАЙМЕРІВ ДО РНК У МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІЙ  
ІДЕНТИФІКАЦІЇ ВІРУСУ ГРИПУ А ШТАМІВ H1N1 ТА H7N9

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»  
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна  
semenb837@gmail.com

**Buriachenko S. V., Stehniy B. T.** APPLICATION OF PRIMERS TO RNA IN MOLECULAR-GENETIC IDENTIFICATION OF H1N1 AND H7N9 STRAIN OF INFLUENZA VIRUS A. Influenza viruses belong to the family of *Orthomyxoviridae* viruses, which are characterized by their segmented RNA-negative genome. The segmented influenza virus genome causes it to be re-assorted in the host cells, leading to the emergence of new viruses. Some combinations of genes can cause viruses with pandemic potential. Selected primers and amplification mode for PCR. The specificity of the method is determined.

Віруси грипу належать до родини вірусів *Orthomyxoviridae*, які характеризуються своїм сегментованим РНК-негативним геномом. Сегментований геном вірусу грипу обумовлює його реасортацію у клітинах хазяїна, що призводить до появи нових вірусів. Деякі комбінації генів можуть спричинити появу вірусів А з пандемічним потенціалом. Факторами вірулентності є покривні білки гемаглютинін (НА), нейрамінідаза (НА), що забезпечують приєднання до клітини-хазяїна, та фактор реплікації – нуклеопротеїн (NP). Різні комбінації генів НА та НА обумовлюють різні підтипи вірусу грипу А. Епізоотію можуть викликати штами H1N1 та H7N9, які є високівірулентними. Тому розробка діагностичних тест-систем для виявлення початкових, прихованих від очей клініциста проявів хвороби, є актуальним завданням світової вірусології.

Мета і завдання – молекулярно-генетична ідентифікація вірусу грипу А штамів H1N1 та H7N9 у різних біологічних зразках, отриманих від хворої птиці та тварин, з використанням праймерів до генів НА, НА та NP, підбір найбільш ефективного методу екстракції РНК вірусу грипу А залежно від біологічного зразка: носові змиви, зішкріби слизових, 10 % суспензія легеневої тканини та бронхів, ексудат трахеї, культура клітин.

Виділення вірусної РНК проводили з 20 носових змивів, 30 зішкрібів, 15 суспензій легеневої тканини та бронхів, 17 ексудатів трахеї хворої та здорової птиці та тварин порівну. Екстракцію РНК проводили трьома методами: М1 – з використанням набору «Genolyse» (Hain Lifescience, Німеччина), М2 – «Реал-Бест Екстракція» (РеалБест, Росія), М3 – «Биоком» (ООО Биоком, Росія) та М4 – «Qiagen» (МоВіо, Німеччина). На базі ННЦ ІЕКВМ (Харків, Україна) нами (Буряченко С. В., Стегній Б. Т.) розроблено тест-систему з використанням праймерів до вірусної РНК підтипів H1N1 та H7N9. Підібрано режими ампліфікації для проведення ПЛР у реальному часі на термоциклері.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що найчастіше вірусна РНК визначається у зразках носових змивів та зішкрібів слизової при екстракції РНК будь-яким із даних методів. Під час порівняння чутливість ПЛР-тесту при екстракції РНК методами М1 та М4 становила 100 %, а при М2 та М3 – 94,4 %. При проведенні ампліфікації РНК, отриманих із зішкрібів слизових хворих тварин, встановлено високу чутливість праймерів до вірусної РНК. Специфічність тесту перевіряли на біологічних зразках, отриманих від здорової птиці та тварин. Специфічність праймерів становила 100 %. У жодному із зразків РНК вірусів грипу А не визначено.

Отже, вибір належної РНК-мішені дуже важливий для створення високоспецифічного ПЛР-тесту. Правильно підібрані праймери до відповідних ділянок РНК-мішеней забезпечують специфічність і чутливість тест-системи. Отримані результати дають змогу зробити висновок, що застосування праймерів: NA5-ACACCAGCCTCCCATTTCSAG та CCCCCTCAATAAAGCCAGCA; NA10-GCCGCAAATGCAGACACATT та GCTGCCGTACACCTCTATT; NA1-CAGGAGCCATATCGAACCC та CTTGGGTGCGCCCTCTGATT; NA8-TGCAGGGATAACTGGCATGG та GCTCCCGCTGTCCAGATTG; NP5-GTGGTCAGCCTGATGAGACC, комплементарних не менш ніж на 95 % до генів НА, НА та NP вірусної РНК, відіграє важливу роль у розробці ПЛР-тесту для швидкої ідентифікації.

**Войтович М.<sup>1</sup>, Цьома І.<sup>2</sup>, Гончаренко В.<sup>1</sup>, Перетятко Т.<sup>1</sup>**

ВПЛИВ АДВЕНТИВНИХ ВИДІВ РОСЛИН НА ЧИСЕЛЬНІСТЬ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

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

<sup>2</sup>Белзький опорний заклад загальної середньої освіти І-ІІІ ступенів  
пл. України, 26а, м. Белз, Львівська область, 80062, Україна  
m.voitovych28@gmail.com

**Voitovych M., Tsioma I., Honcharenko V., Peretyatko T.** EFFECTS OF ADVENTIVE PLANTS SPECIES ON THE QUANTITY OF SOIL MICROORGANISMS. Effects of *S. canadensis*, *H. sosnowskyi*, *A. artemisiifolia* on

the quantity of microorganisms of different ecological and trophical groups are studied. *S. canadensis* has the highest effect on the quantity of bacteria, fungi and yeasts. The lowest number of bacteria was found in soil samples, isolated from the rhizosphere of *S. canadensis* і *A. artemisiifolia* as a result of study of effects of adventive flora on the quantity of microorganisms with the amilolytic activity.

Поширення адвентивних видів рослин за межі їхніх первинних ареалів має глобальний характер і може спричинити необоротну екологічну катастрофу, небажані економічні та соціальні наслідки. На відміну від більшості забруднювальних речовин антропогенного походження, які у природних екосистемах у ході процесів самоочищення зазвичай руйнуються і вміст яких контролюється людиною, чужорідні організми, які успішно заселилися, можуть створювати біологічні перешкоди, знищуючи аборигенні види, порушуючи структуру біотичних угруповань, часто з непередбачуваними й необоротними наслідками. Окремі види адвентивних рослин негативно впливають на якісний і кількісний склад ґрунтових мікроорганізмів, знижують родючість ґрунту.

Метою роботи було проаналізувати вплив адвентивних видів рослин (*Solidago canadensis* L., *Heracleum sosnowsky* Manden і *Ambrosia artemisiifolia* L.) на чисельність сапрофітних бактерій, дріжджів, плісневих грибів, денітрифікувальних бактерій і мікроорганізмів з амілолітичною активністю.

З’ясовано вплив *S. canadensis*, *H. sosnowskyi*, *A. artemisiifolia* на чисельність мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп. Виявлено, що найбільший вплив на чисельність бактерій, грибів і дріжджів має *S. canadensis*. Розраховано коефіцієнт мінералізації-імобілізації у пробах ґрунту, відібраних у місцях зростання адвентивних видів рослин. У місці поширення *S. canadensis* він становить 0,30. Це свідчить про те, що у ґрунті процеси мінералізації відбуваються менш інтенсивно, порівняно з пробами ґрунту, відібраного у місцях поширення *H. sosnowskyi* і *A. artemisiifolia*. Встановлено, що найбільше осушує і виснажує ґрунт *A. artemisiifolia*. Унаслідок дослідження впливу адвентивної флори на чисельність мікроорганізмів з амілолітичною активністю найменшу кількість бактерій виявлено у пробах ґрунту, відібраного з місць зростання *S. canadensis* і *A. artemisiifolia*.

**Головань В., Андрійчук О.**

ОСТРІВ ГАЛІНДЕЗ, МОРСЬКА АНТАРКТИКА ЯК ПОЛІГОН  
ДЛЯ ВИВЧЕННЯ РІЗНОМАНІТТЯ БАКТЕРІОФАГІВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, м.Київ, 01601, Україна  
holovanviktoria@gmail.com

**Holovan V., Andriychuk E.** GALINDEZ ISLAND, MARITIME ANTARCTIC AS A RESEARCH AREA FOR STUDYING THE DIVERSITY OF BACTERIOPHAGES. Antarctica is the fifth largest continent on our planet, counting area of 14,200,000 km<sup>2</sup>. It consists mostly of rocks regions and 99,7 % is covered by ice and snow (Convey, 2008). The temperature is usually below 0 °C during the whole year, except summer period, when soils melt. Due to the cause of harsh conditions, microorganisms, which inhabit this area, have an extraordinary system of adaptation for surviving in a critical environment (O’Brien, 2004). It is well known, that bacteriophages are the most numerous creatures on the earth. The aim of our work was assessing the geographical spreading and revealing the role of viruses in the ecological aspect and microbial communities in the unique environment of the Antarctic region.

Антарктида є п’ятим найбільшим континентом на Землі з площею поверхні 14 млн км<sup>2</sup>. Цей континент складається в основному зі скельних регіонів, він на 99,7 % покритий постійним льодом і снігом (Convey, 2008). Температура в Антарктиді протягом року зазвичай залишається нижчою 0 °C, за винятком літніх місяців, коли ґрунти відтавають. У зв’язку зі суворими умовами мікроорганізми, що живуть на континенті й на островах, мають унікальні стратегії адаптації для виживання у критичному середовищі (O’Brien, 2004).

Для вивчення географічного поширення бактеріофагів проведено відбір зразків моху та ґрунту з регіону Аргентинських островів, Морська Антарктида.

Кліматичні особливості західного узбережжя Антарктичного півострова та прилеглих островів обумовлені панівним термічним впливом тихоокеанського сектора Південного океану й особливостями рельєфу цього регіону Антарктиди. Місцевий клімат визначається як субантарктичний, океанічний (Говоруха, 1997; Тимофєєв, 2003) або помірний (у межах Південної Полярної області) (Атлас Антарктики, 1968), з відносно високою температурою та вологістю повітря, значними сумами опадів (400—600 мм на рік) і сильними вітрами. Саме через панування морського клімату район західного узбережжя Антарктичного півострова від верхівки та прилеглих архіпелагів на півночі до затоки Маргарити на півдні виділено в окремий біогеографічний район — Морську Антарктику (Riffenburgh, 2007).

Ділянками відбору були: MarinaPoint (S 65.245700°, W 64.256200°); PenguinPoint (S 65.248750°, W 64.240040°); PigeonPoint (S 65.251000°, W 64.242633); StellaPoint (S 65.247880°, W 64.253380°); CarolinaPoint (S 65.249330°, W 64.252960°); SternaPoint (65.251350°, 64.252460°); CorniceChannel (S 65.251794°, W 64.244999°). Назви ділянок вказано відповідно до картування о. Галіндез ДУ Національний антарктичний науковий центр МОН України (Парнікоза, 2019).

З відібраного матеріалу на ділянках о. Галіндез виділено бактеріофаги. Встановлено їхні морфологічні та біологічні властивості. За результатами електронної мікроскопії у переважній більшості бактеріофаги



належать до порядку *Caudovirales* і становлять більше 80 %. Відносний рейтинг чисельності родин фагів порядку *Caudovirales* за кількісним складом розподілився між представниками родин *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae*.

**Добрянська І., Яворська Г., Мороз О., Гнатюш С., Квас І., Мудриків Д.**  
ВПЛИВ КАЛІЙ БІХРОМАТУ НА ВІДНОВЛЕННЯ СІРКОВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ  
БАКТЕРІЯМИ *DESULFUROMONAS* SP. ЙОНІВ НІТРАТУ Й НІТРИТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
oksana2018r@gmail.com

**Dobrianska I., Yavorska G., Moroz O., Hnatysh S., Kvas I., Mudrikov D.** THE INFLUENCE OF POTASSIUM DICHROMATE ON REDUCTION OF NITRATE AND NITRITE IONS BY SULFUR REDUCING BACTERIA *DESULFUROMONAS* SP. Sulfur reducing bacteria, capable to reductive transformation of different dangerous pollutants, are used in biotechnologies of complex purification of environment. That's why the purpose of this work was to study the influence of potassium dichromate on reduction of nitrate and nitrite ions by bacteria *Desulfuromonas* sp., isolated from Yavorivske Lake. It was established that potassium dichromate inhibits the biomass accumulation, nitrate or nitrite ions reduction by *Desulfuromonas* sp. after simultaneous addition into the medium of  $\text{NaNO}_3$  or  $\text{NaNO}_2$  and  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . Nitrate and nitrite ions slightly influenced on dichromate ions reduction by bacteria.

Промислові стоки, шахти, затоплені кар'єри родовищ сірки (озеро Яворівське) містять, окрім токсичних сульфур- і нітрогеновмісних сполук, йони та оксоаніони металів, зокрема, хромати. Хоча хром є одним із найпоширеніших елементів земної кори (100–300 мг/г), його нагромадження у біосфері є результатом антропогенної діяльності (Viti et al., 2014). Cr(VI) (у складі хроматів і біхроматів) – розчинний, дуже токсичний для живих організмів, мутагенний і канцерогенний для людини (Gibb et al., 2000). Для виживання у забрудненому Cr(VI) довкіллі мікроорганізми мають різні механізми стійкості, такі як видалення йонів хромату з цитоплазми або позаклітинне відновлення Cr(VI) до Cr(III) (Morais et al., 2011). Тому метою роботи було вивчити вплив калій біхромату за наявності його в середовищі культивування на відновлення нітрат- і нітрит-йонів сірковідновлювальними бактеріями *Desulfuromonas* sp. для оцінки ймовірного використання цих бактерій у технологіях очищення довкілля від небезпечних забруднювачів.

Бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна без солі Мора та  $\text{SO}_4^{2-}$  з цистеїном (0,2 г/л) і натрій лактатом (17,86 мМ) упродовж 10 діб за 30 °C (Гудзь та ін., 2014). Для вивчення впливу калій біхромату на використання бактеріями нітрат- і нітрит-йонів клітини попередньо культивували у середовищі з  $\text{C}_4\text{H}_3\text{NaO}_4$  (3,47 мМ) до середини експоненційної фази росту. Клітини висівали (густина засіву – 0,1 мг/мл) у середовище без  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , до якого додавали стерильні розчини  $\text{NaNO}_3$  або  $\text{NaNO}_2$  до кінцевих концентрацій 1,74; 3,47; 5,21; 6,94 і 10,41 мМ та стерильний розчин  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  до кінцевої концентрації 3,47 мМ. Для перевірки росту бактерій у середовищі з йонами нітрату, нітриту або біхромату як єдиним акцептором електронів клітини висівали у середовища з 3,47 мМ  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$  або  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . У середовищі без клітин (контроль) вивчали рівень відновлення йонів нітрату, нітриту і біхромату. Після 10 діб росту визначали біомасу, вміст йонів нітрату, нітриту, біхромату, хрому (III) й амонію у культуральній рідині (Гудзь та ін., 2014).

Встановлено, що калій біхромат інгібує нагромадження біомаси, відновлення йонів нітрату й нітриту і утворення йонів амонію *Desulfuromonas* sp. за одночасного внесення у середовище  $\text{NaNO}_3$  або  $\text{NaNO}_2$  (1,74–10,41 мМ) та  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (3,47 мМ). У середовищах з  $\text{NaNO}_3$  або  $\text{NaNO}_2$  та  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  спостерігали зниження використання бактеріями йонів нітрату й нітриту, порівняно з їхнім відновленням у середовищах лише з  $\text{NaNO}_3$  або  $\text{NaNO}_2$ . Відновлення бактеріями *Desulfuromonas* sp. йонів біхромату у середовищах з  $\text{NaNO}_3$  або  $\text{NaNO}_2$  та  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  незначно відрізнялося від використання  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  у середовищі лише з  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

Отже, показано, що  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (3,47 мМ) пригнічує ріст і дисиміляційне відновлення нітрат- і нітрит-йонів бактеріями *Desulfuromonas* sp.  $\text{NaNO}_3$  та  $\text{NaNO}_2$  (1,74–10,41 мМ) не впливають на відновлення сірковідновлювальними бактеріями йонів біхромату.

**Домша О.<sup>1</sup>, Яворська Г.<sup>1</sup>, Воробець Н.<sup>2</sup>, Свиденко Л.<sup>2</sup>**

**АНТИКАНДИДОЗНА АКТИВНІСТЬ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ІЗ ЛАВАНДИНІВ**

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

<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
вул. Пекарська, 73, м. Львів, 79000, Україна  
olyadomsha@gmail.com

**Domsha O., Yavorska G., Vorobets N., Svydenko L.** ANTICANDIDAL ACTIVITY OF LAVANDINE ESSENTIAL OILS. The oils of lavandins (*Lavandula hybrida* Medic.), cv. 'Inii' and 'Rabat' exhibited considerable antifungal activity against five tested *Candida* spp. Both the tested oils of lavandins Inii and Rabat demonstrated inhibitory

action against all the *Candida* species at low concentrations (100 or 200  $\mu$ L). The most sensitive were *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis*, and *C. kefir*, some less sensitive were *C. curvata* and *C. tenuis*.

Ефірні олії рослин добре відомі у традиційній медицині як антисептики й антимікробні засоби. Їх характеризують широким спектром дії щодо бактерій і грибів. Традиційно ефірні олії застосовували як антисептичний засіб для оброблення ран, опіків і укусів комах, а також у ветеринарній практиці. У разі місцевого застосування ці речовини можуть бути вагомою альтернативою синтетичним препаратам, хоча їх досі не застосовують системно. Лавандини – це гібриди сортів лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia* Mill.) та лаванди широколистої (*Lavandula latifolia* Medik.). Ефірну олію лавандинів переважно використовують в ароматерапії як заспокійливий засіб. У деяких дослідженнях описано активність олій *in vitro* щодо різних бактерій, включаючи стійкі до антибіотиків штами, та грибів. Вплив ефірних олій деяких видів родини *Lamiaceae* та сортів, зокрема, лавандинів на дріжджі роду *Candida* вивчено недостатньо. Подібні дослідження стали особливо актуальними, оскільки в останні десятиліття українськими селекціонерами було створено кілька нових сортів лавандинів, які потребують поглибленого вивчення. Тому метою роботи було визначити антикандидозну дію ефірних олій із лавандинів (*Lavandula hybrida* Medic.) сортів Іній та Рабат на дріжджі роду *Candida*.

Антимікробну активність визначали, використовуючи метод дифузії в агар у двох модифікаціях (Воробець і співавт., 2016): зі скляними циліндриками і метод лунок. Ефірні олії лавандинів Іній і Рабат отримано з використанням апарату Клевенджера (Свиденко, 2001). Як тест-культури використовували дводобові культури дріжджів: *C. pseudotropicalis* D-14-C, *C. curvata* D-14-C, *C. kefir* D-14-C, *C. parapsilosis* D-35-C, *C. tenuis* ВКМ У-70 із колекції культур кафедри мікробіології ЛНУ ім. Івана Франка. Діаметр зон затримки росту навколо тестових культур вимірювали в мм через два дні. Декасан, флюконазол та ефірну олію лаванди вузьколистої (*Lavandula angustifolia* Mill.) використано як контроль, оскільки відомо, що вони інгібують *C. albicans* та інші штами *Candida* (D’Auria et al., 2005; Воробець та ін., 2018). Значення діаметра затримки росту від 6 до 8 мм і менше вважали такими, за яких діюча речовина неактивна.

Встановлено, що всі досліджені штами роду *Candida* були повністю чутливими до ефірних олій лаванди Іній і Рабат у низькій концентрації (100 мкл). Найчутливішими були *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis* і *C. kefir*, а менш чутливими – *C. curvata* та *C. tenuis*. Наявність у лунці 200 мкл ефірної олії з лавандинів Іній і Рабат спричиняло загальне пригнічення росту штамів *C. kefir*, *C. tenuis* і *C. parapsilosis*.

Суттєвий вплив на клітини *C. parapsilosis* підтверджено й методами скануючої та просвічуючої електронної мікроскопії. Встановлено, що ефірні олії суттєво порушують клітинні стінки, а також весь внутрішній вміст. Це, найімовірніше, стає причиною летальної дії на клітини *C. parapsilosis*.

Отже, одержані результати свідчать про перспективність досліджень застосування препаратів рослинного походження для пригнічення життєдіяльності деяких культур дріжджів.

**Дяків С., Бойко П., Зінчук М.**

#### МІКРОБІОТА РИЗОСФЕРИ *CORYLUS* SP. ЗА ПОРУШЕННЯ АГРОТЕХНІКИ ВИРОЩУВАННЯ

Волинська філія ДУ «Інститут охорони ґрунтів України»  
вул. Глушець, 49, м. Луцьк, 43010, Україна  
Kuzmishyna\_s\_@ukr.net

**Diakiv S., Boyko P., Zinchuk M. MICROBIOTA OF *CORYLUS* SP. RHIZOSPHERE UNDER AGROTECHNICAL CULTIVATION VIOLATION.** Microbiota of *Corylus* sp. rhizosphere on privat farm territory of Lutsk district was investigated. Experimental area plantations were exposed by agrotechnical cultivation changes. Increasing of eutrophic bacteria number as well as nitrogen fixation level and phosphorus compounds mobilization compared to control area were established. The high number of aerobic cellulose decomposing microorganisms and actinomycetes from affected bushes were revealed. Pathogenic bacteria of the genus *Agrobacterium* were not selected.

Стан мікробного різноманіття ґрунту, співвідношення між мікроорганізмами різних груп свідчать про спрямованість мікробіологічних процесів, доступність елементів мінерального живлення для рослин (Андреюк та ін., 2001). Зміна умов довкілля впливає на засвоєння рослинами макро- та мікроелементів, що відображається на врожайності (Патика та ін., 2007). Тому недотримання агротехніки негативно впливає на функціонування мікробіоти ризосфери. У ризосфері *Corylus avellana* наявні бактерії родів *Rhizobium*, *Pedomicrobium*, *Ilumatobacter*, *Streptomyces* і *Geobacillus*, а також мікроміцети родів *Trechispora* та *Humicola* (Li et al., 2019). Серед патогенів для роду *Corylus* характерні *Pseudomonas avellanae*, *P. syringae* (Scortichini et al., 2002). Досліджували рослини *Corylus* sp. із двох ділянок площею 4 га приватного господарства Луцького району. Відбирали проби ризосфери здорових рослин (контроль) і рослин із недорозвиненою кореневою системою та габітусом (дослід). Посів матеріалу на поживні середовища методом серійних розведень та ідентифікацію чистих культур проводили, як описано (Гудзь та ін., 2014; Волкогон та ін., 2010). У ризосфері дослідних рослин порівняно з рослинами контрольної ділянки виявлено підвищену кількість мікроорганізмів таких груп: бактерії, що засвоюють органічні сполуки нітрогену, – у 6 разів більше (контроль –  $1,8 \times 10^6$  КУО/г); бактерії, що засвоюють мінеральний нітроген, – у 2,9 разу (контроль –  $0,7 \times 10^6$  КУО/г); бактерії, що мобілізують мінеральні сполуки фосфору, – у 2,2 разу (контроль –  $2,2 \times 10^6$  КУО/г); азотофіксуювальні бактерії – в 1,6 разу (контроль –  $5,2 \times 10^6$

КУО/г). Чисельність оліготрофних бактерій у ризосфері дослідних рослин була на 12 % нижчою, ніж у контролі. В уражених рослин чисельність мікроскопічних грибів, у т.ч. актиноміцетів із вираженою целюлозолітичною активністю була високою, що свідчить про деструкцію органічної речовини у прикореневій зоні та про зміну метаболічних процесів. За результатами культуральних і мікроскопічних досліджень патогенних бактерій роду *Agrobacterium* sp. не виділено. Отже, підвищена кількість мікроорганізмів, що відповідають за перетворення N і P, висока чисельність деструкторів целюлози у ризосфері дослідних рослин можуть свідчити про порушення агротехніки вирощування *Corylus* sp.

**Дуда О.<sup>1</sup>, Стахера І.<sup>2</sup>, Цегелик Г.<sup>2</sup>, Перетятко Т.<sup>1</sup>**

**ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН НА РІСТ І СУЛЬФІДОГЕННУ АКТИВНІСТЬ  
СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ КИШЕЧНИКА ЩУРІВ,  
ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВИЙ КОЛІТ**

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

<sup>2</sup>ВНКЗ ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крутинського»  
вул. П. Дорошенка, 70, м. Львів, 79000, Україна  
helganovak12@gmail.com

**Duda O., Stakhera I., Tsehelyk H., Peretyatko T.** EFFECTS OF ORGANIC COMPOUNDS ON THE GROWTH AND SULFIDOGENIC ACTIVITY OF SULFATE-REDUCING BACTERIA, ISOLATED FROM DIFFERENT DIVISIONS OF RATS WITH ULCERATIVE COLITIS INTESTINE. Sulfate-reducing bacteria, isolated from the distal and proximal divisions of small and large intestine of rats with ulcerative colitis produce 0.4–1.5 mM of hydrogen sulfide in media with different organic compounds.

Виразковий коліт – найпоширеніший вид запального захворювання кишечника. На виникнення і розвиток виразкового коліту впливають фактори зовнішнього середовища, інфекційні, імунологічні та генетичні чинники. За розвитку коліту часто виникає дисбіоз – порушення нормального складу мікробіоти шлунково-кишкового тракту, зокрема, зростання чисельності сульфатвідновлювальних бактерій. Клітини слизової кишечника, муцин та інші виділення постійно руйнуються і використовуються бактеріями, які населяють товстий кишечник. Проте значний вплив на видовий склад цих мікроорганізмів і активність їхнього метаболізму мають продукти харчування людини. Основними джерелами карбону й енергії для бактерій кишечника є полісахариди (крохмаль, клітковина). Вони використовують також значну кількість олігосахаридів, білків.

Дослідження сульфідогенної активності сульфатвідновлювальних бактерій у середовищах із різними джерелами карбону має важливе значення для розуміння впливу гідроген сульфід – продукту дисиміляційного відновлення сульфату – на клітини кишечника, а також на зміни у складі мікробіоти.

Метою нашої роботи було з'ясувати вплив різних органічних речовин на ріст сульфатвідновлювальних бактерій у середовищі Постгейта С і порівняти сульфідогенну активність штамів, виділених із різних відділів шлунково-кишкового тракту щурів, хворих на виразковий коліт, у середовищах із різними донорами електронів.

Сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з проксимального відділу товстого кишечника, мали найвищу сульфідогенну активність у середовищі із глюкозою та лактатом; вони відновили 8–12 мМ сульфату й нагромадили до 1,5 мМ гідроген сульфід.

Сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з дистальних відділів тонкого та товстого кишечника, мали трохи нижчу сульфідогенну активність, ніж сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з проксимального відділу товстого кишечника; вони відновили 5–8 мМ сульфатів і нагромадили 0,3–0,8 мМ гідроген сульфід. У середовищі з етанолом сульфатвідновлювальні бактерії штаму, виділеного з дистального відділу товстого кишечника, відновили 10,4 мМ сульфату й нагромадили 0,4 мМ гідроген сульфід.

Сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з дистального відділу тонкого кишечника і проксимального відділу товстого кишечника, відновили 7–8 мМ сульфату й нагромадили 0,6–0,9 мМ гідроген сульфід. Внутрішньоклітинна концентрація сульфатів за впливу різних органічних речовин істотно не відрізнялась і залишалась у межах 0,04–0,14 мМ протягом 14 діб культивування.

Отже, сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з дистального і проксимального відділів тонкого і товстого кишечника щурів, хворих на виразковий коліт, у середовищах із різними органічними речовинами продукують 0,4–1,5 мМ гідроген сульфід.

**Ігнатенко М., Грецький І.**

**СПОСІБ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОЛЮМІНЕСЦЕНТНОЇ АКТИВНОСТІ БАКТЕРІЙ  
*PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM* ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ**

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна  
ign.marya@gmail.com

**Ihnatenko M., Gretscky I.** A METHOD OF SAVING THE BIOLUMINESCENT ACTIVITY OF *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM* WITH THE EXOPOLYSACCHARIDES APPLICATION. Bioluminescence of the strain of

luminous bacteria *Photobacterium phosphoreum* IMV B-7071 with the polysaccharides application has been studied. The dynamics of luminescence of bacterial cells during incubation in a gel nutrient medium indicates a better preservation of the luminescence of bacteria in vials of polypropylene at a cell number of  $2.0 \times 10^7$  cells/ml in suspension and storage temperature  $+4^\circ\text{C}$ . The viscosity of the cell suspension, which makes them suitable for use in the sensing element, after 14 days of storage is  $5.58\text{--}6.0\text{ mm}^2/\text{s}$ , which is sufficient for fixing the bacteria on the substrate.

Одним із варіантів рецепторного елементу біосенсора є краплі суміші гелю з люмінесцентними бактеріями, фіксовані на твердій фазі (Кацев, 2009). Сенситивним параметром виступає інтенсивність люмінесценції бактерій. Цей параметр напряму залежить від фізіологічного стану клітин, який обумовлює високу чутливість і швидкість реакції-відповіді на різноманітні впливи. Тобто для ефективної люмінесценції необхідно вирішити основну проблему – забезпечити ефективне функціонування бактерій у краплі гелю.

Метою роботи було визначити умови зберігання сенсорного елементу для тестування біологічної дії електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону за участі люмінесцентних бактерій *Photobacterium phosphoreum* IMB B – 7071.

При створенні суміші бактеріальної суспензії та комбінації гелів (ЕПАА та ксантан) для збереження тривалої біолюмінесценції мікроорганізмів розчини з різною концентрацією гелів ЕПАА та ксантане (в комбінації 3:7) з додаванням 3% розчину натрію хлориду стерилізували за  $0,5\text{ атм}$  протягом 30 хв. Як посівний матеріал використовували суспензію добової культури люмінесцентних бактерій *P. phosphoreum* IMB B-7071. Головним критерієм для оцінки зберігання бактерій була інтенсивність люмінесценції клітин.

З метою застосування композицій ЕПС для зберігання бактеріальної люмінесценції в ємностях із різних матеріалів (алюміній, скло, сталь, поліпропілен) у стерильні флакони вносили суміш бактеріальної суспензії та гелів з ЕПС у співвідношенні 1:1. Після перемішування одну частину зразків залишали на зберігання за температури  $+4^\circ\text{C}$ , а іншу – за  $+21^\circ\text{C}$ .

Динаміка люмінесценції бактеріальних клітин під час інкубації у гелевому середовищі свідчить про краще збереження люмінесценції бактерій у флаконах із поліпропілену при кількості клітин  $2,0 \times 10^7$  кл/мл у суспензії та температурі зберігання  $+4^\circ\text{C}$ . В'язкість суспензії клітин, що робить їх придатними для використання в сенсорному елементі, після 14 діб зберігання становить  $5,58\text{--}6,0\text{ мм}^2/\text{с}$ , яка достатня для фіксації бактерій на підложці.

Таким чином, гелеві композиції на основі ЕПАА і природного ЕПС ксантану є перспективними компонентами для пролонгації терміну зберігання і стабілізації властивостей люмінесцентних мікробних біопрепаратів.

**Ішчак О., Кулішко Н., Зінковська В., Масловська О., Гнатуш С.**

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ БАКТЕРІЙ

*DESULFUROMONAS ACETOXIDANS* IMB B-7384 ЗА ВПЛИВУ КОБАЛЬТ ХЛОРИДУ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна  
olenka.ishchak2000@gmail.com

**Ishchak O., Kulishko N., Zinkovska V., Maslovska O., Hnatush S. LIPID PEROXIDATION OF *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS* IMB B-7384 BACTERIA UNDER THE INFLUENCE OF COBALT CHLORIDE.** The aim of the study is to investigate the intensity of lipid peroxidation of bacteria *Desulfuromonas acetoxidans* IMV B-7384 under the influence of cobalt chloride. Cobalt chloride causes free radical damage of *D. acetoxidans* IMV B-7384 cell lipids. This was evidenced by the increase in the content of lipid peroxidation markers in response to the addition of cobalt chloride into the culture medium of *D. acetoxidans* IMV B-7384.

Іони перехідних металів, зокрема, кобальту, у низьких концентраціях необхідні для нормального функціонування клітин мікроорганізмів. Вони є кофакторами багатьох ензимів. Кобальт належить до складу багатьох біологічно активних сполук, зокрема, вітаміну  $\text{B}_{12}$ , а кобальтовмісні ензими головно залучені у регуляцію процесів трансамінування амінокислот (Schmidt, Schlegel, 1989). Однак у високих концентраціях цей метал може бути токсичним. Унаслідок антропогенної діяльності іони кобальту потрапляють у навколишнє середовище. Бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384 є ефективними екзоелектрогенними бактеріями, які забезпечують формування електричного струму в мікробному паливному елементі за росту на стічних водах промислового чи муніципального походження (Hnatush, 2020). Стічні води металургійних підприємств часто містять високі концентрації йонів важких металів, зокрема, сполук кобальту (Kriklend, 2015). Однією з причин високої токсичності кобальту є його участь у реакціях Фентона і Хабера-Вайса, у результаті яких утворюються вільнорадикальні сполуки. За вільнорадикальним механізмом пошкоджуються клітинні макромолекули, зокрема, ліпіди.

Метою роботи було дослідити інтенсивність перекисного окиснення ліпідів бактерій *D. acetoxidans* IMB B-7384 за впливу кобальт хлориду. Бактерії вирощували у середовищі Постгейта С (без внесення сульфатів) упродовж чотирьох діб за  $+29^\circ\text{C}$ . Як донор і акцептор електронів використовували фумарат натрію ( $42\text{ мМ}$ ). У середовище культивування вносили кобальт хлорид у концентраціях 1, 5, 10, 15, 20 мМ. Бактерії, вирощені в середовищі без внесення солі металу, використовували як контроль.

Встановлено, що вміст дієнових кон'югатів у безклітинних екстрактах *D. acetoxidans* IMB B-7384 змінювався залежно від концентрації кобальт хлориду в середовищі. Вміст цих продуктів перекисного окиснення ліпідів зростав зі збільшенням концентрації солі металу. Найвищий вміст дієнових кон'югатів (5,48–5,79±0,27 ммоль/мг білка) виявлено за впливу кобальт хлориду в концентраціях 15–20 мМ на другу добу культивування, що у 685–724 разів перевищує цей показник у контролі. Вміст гідропероксидів ліпідів найвищим був на третю добу культивування бактерій за впливу 15 мМ кобальт хлориду. За впливу цієї концентрації кобальт хлориду вміст гідропероксидів ліпідів був вищим у 47 разів, порівняно з контролем. Нагромадження дієнових кон'югатів і гідропероксидів ліпідів свідчить про вільнорадикальний механізм пошкодження ліпідів *D. acetoxidans* IMB B-7384 за впливу кобальт (II) хлориду. Відомо, що первинні продукти перекисного окиснення ліпідів є попередниками утворення вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів, серед яких тіобарбітурат-активні продукти (ТБКАП). Найвищий вміст цих продуктів зафіксували на 3-тю добу культивування бактерій. За впливу кобальт хлориду в концентраціях від 1 до 5 мМ вміст ТБКАП знижувався у 3–11 разів, порівняно з контролем. За впливу 20 мМ кобальт (II) хлориду вміст ТБКАП знижувався у 2,4 разу, порівняно із вмістом цих продуктів ПОЛ за впливу 10 мМ, однак був значно вищим ніж у контролі. Зростання вмісту показників вільнорадикального пошкодження ліпідів свідчить про те, що внесення кобальт (II) хлориду в середовище культивування *D. acetoxidans* IMB B-7384 спричиняє інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у клітинах бактерій.

**Квас І., Яворська Г., Мороз О., Гнатуш С., Добрянська І., Мудриків Д.**

**ВПЛИВ КАЛІЙ БІХРОМАТУ НА ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІЯМИ  
*DESULFOVIBRIO* SP. ЙОНІВ НІТРАТУ І НІТРИТУ ЯК АКЦЕПТОРІВ ЕЛЕКТРОНІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
ivenchuk@gmail.com

**Kvas I., Yavorska G., Moroz O., Hnatush S., Dobrianska I., Mudrikov D.** THE INFLUENCE OF POTASSIUM DICHROMATE ON USAGE OF NITRATE AND NITRITE IONS AS ELECTRON ACCEPTORS BY *DESULFOVIBRIO* SP. Isolated from Yavorivske Lake strains of sulfate reducing bacteria are perspective for application in technologies of complex environment purification from Cr(VI) and nitrogen compounds, since they are capable to active reductive transformation of these pollutants. It was established that potassium dichromate inhibit the biomass accumulation, nitrate or nitrite ions reduction and ammonium ions production by *Desulfovibrio* sp. after simultaneous addition into the medium of NaNO<sub>3</sub> or NaNO<sub>2</sub> and K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

Важкі метали впливають на фізіолого-біохімічні процеси бактерій (Мороз та ін., 2016; Hnatush et al., 2018). Сульфатвідновлювальні бактерії можуть використовувати метали як акцептори електронів (Cr(VI), U(VI), Tc(VII), Pd(II) та ін.), перетворюючи їх на менш токсичні сполуки. Cr(VI) здійснює токсичний вплив на бактерії, який пов'язаний з його здатністю заміщувати Mg(II) у ДНК-полімерази та в інших ферментах, а також реагувати з карбонільними і сульфгідрильними групами ферментів, впливати на процеси реплікації та транскрипції (Viti et al., 2014). Cr(VI), пригнічує ріст мікроорганізмів, однак вони мають ефективні системи нейтралізації його негативних ефектів (Sobol & Schiestl, 2012), такі як видалення іонів хромату з цитоплазми або позаклітинне відновлення Cr(VI) до Cr(III). Дослідження механізмів стійкості мікроорганізмів до сполук металів є підставою для їхнього застосування у технологіях очищення довкілля (Mustapha & Halimoon, 2015). Тому метою нашої роботи було з'ясувати вплив калій бихромату на відновлення нітратів і нітритів штамами сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio* sp., виділеними з озера Яворівське.

Бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8 вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна без SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> упродовж 10 діб за температури 30 °C (Гудзь та ін., 2014). Клітини висівали (густина засіву – 0,1 мг/мл) у середовище без SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> та NH<sub>4</sub>Cl із цистеїном (0,2 г/л) і натрій лактатом (17,86 мМ), до якого додавали стерильні розчини NaNO<sub>3</sub> або NaNO<sub>2</sub> до кінцевих концентрацій: 1,74; 3,47; 5,21; 6,94; 10,41 мМ, та стерильний розчин K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> до кінцевої концентрації 3,47 мМ. Клітини також висівали в середовище з 3,47 мМ NaNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub> або K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Рівень відновлення іонів нітрату, нітриту або бихромату вивчали після внесення їх у середовище без клітин. На 10-ту добу визначали біомасу, вміст іонів нітрату, нітриту, бихромату, хрому (III) або амонію в культуральній рідині (Гудзь та ін., 2014).

Встановлено, що калій бихромат (3,47 мМ) інгібує накопичення біомаси, відновлення іонів нітрату й нітриту і утворення іонів амонію бактеріями *Desulfovibrio* sp. після одночасного внесення в середовище NaNO<sub>3</sub> або NaNO<sub>2</sub> (1,74–10,41 мМ) та 3,47 мМ K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. У середовищах з 1,74–10,41 мМ NaNO<sub>3</sub> чи NaNO<sub>2</sub> та 3,47 мМ K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> спостерігали зниження нагромадження біомаси бактеріями *Desulfovibrio* sp., порівняно з ростом клітин у середовищах з NaNO<sub>3</sub> або NaNO<sub>2</sub> як єдиним акцептором електронів. У середовищах з 3,47 мМ K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> і NaNO<sub>3</sub> чи NaNO<sub>2</sub> за всіх концентрацій спостерігалося зменшення використання нітратів або нітритів *Desulfovibrio* sp. (48,7–77,5 та 45,5–76,3 % відповідно), порівняно з їхнім відновленням у середовищі лише з 3,47 мМ NaNO<sub>3</sub> чи NaNO<sub>2</sub> (96,2–97,4 та 95,7–97,4 % відповідно). Відновлення Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup> у середовищі з K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> і NaNO<sub>3</sub> чи NaNO<sub>2</sub> не відрізнялося від його використання у середовищі лише з K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

Отже, виявлено, що за впливу 3,47 мМ  $K_2Cr_2O_7$  сповільнюється дисиміляційна нітрат- і нітритредукція у *Desulfovibrio* sp., тоді як нітрати чи нітрити в середовищі не впливали на відновлення бактеріями іонів біхромату.

**Київ Д., Яценко А., Картова Н., Станішевський І., Комаровська-Порохнявець О.**

**ФУНГІЦИДНА АКТИВНІСТЬ ТІОСУЛЬФОЕСТЕРІВ І ЇХНІХ КОМПОЗИЦІЙ ІЗ ТВІН-80**

Національний університет «Львівська політехніка»  
вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна  
dmytro.kiiv.bt.2017@lpnu.ua

**Kiiv D., Yatsenko A., Kartova N., Stanishevskiy I., Komarovska-Porokhnyavets O.** FUNGICIDAL ACTIVITY OF THIOSULPHOESTERS AND THEIR TWIN-80 COMPLEX. The fungicidal activity of new compositions of ethyl, allyl, propyl, methyl esters of 4-aminobenzenesulfonic acid and TWIN-80 in relation to the phytopathogenic fungi *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia cerealis* has been investigated. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the percent inhibition of mycelium's growth (IMG%) were established.

Мікотоксини – це вторинні метаболіти мікроскопічних плісєневих грибів. Споживання продуктів, які містять мікотоксини, призводить до виникнення гострих харчових отруєнь, небезпечних чи смертельних захворювань у людей і тварин. Зростання темпів розвитку сільськогосподарської галузі призводить до збільшення обсягів сировини та продукції у сховищах, що підвищує ймовірність контамінації фітопатогенними мікроорганізмами.

Мета роботи: визначення фунгіцидних властивостей нових водорозчинних комплексів етилового, алілового, пропілового, метилового естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти і ТВІН-80 щодо фітопатогенних грибів *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* та *Rhizoctonia cerealis*.

Об'єкти дослідження - етиловий, аліловий, пропіловий, метиловий естер 4-амінобен-зентіосульфоїкислоти (ЕТС, АТС, ПТС, МТС), поверхнево-активна речовина ТВІН-80 та їхні композиції ЕТС+ТВІН, АТС+ТВІН, ПТС+ТВІН, МТС+ТВІН.

Визначення фунгіцидної активності речовин проводили за допомогою методу дифузії речовини в агар (метод лунок), методу серійних розведень; для визначення відсотка інгібування росту міцелію (ІРМ%) використовували метод вимірювання лінійного росту колоній. Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням програми *Microsoft Excel*.

Вивчено фунгіцидну активність методом дифузії речовини в агар у концентраціях 1%, 0,1% та 0,01%. Встановлено вибіркoву дію досліджуваних сполук щодо тестованих фітопатогенів. За дії 0,1 та 0,01% спостерігали відносно низьку чутливість *F. oxysporum* і *R. cerealis* до досліджуваних речовин (ДЗЗР = 8-12 мм), проте зона затримки росту *A. alternata* становила 15-21 мм за дії 0,1% розчинів сполук. 1% розчини комплексів виявились найбільш ефективними, зокрема, ПТС+ТВІН, АТС+ТВІН, МТС+ТВІН, ЕТС+ТВІН виявили фунгіцидну активність у зоні затримки росту грибів *A. alternata* – 20,0; 30,0; 30,0 та 35,0 мм, відповідно, *R. cerealis* – 21,5; 22,0; 24,0 та 19,0 мм.

За допомогою методу серійних розведень встановлено, що показники МІК комплексів були в межах 15,6-125 мкг/см<sup>3</sup>, зокрема, для ПТС+ТВІН МІК становив 31,2 мкг/см<sup>3</sup> щодо *A. alternata* і *F. oxysporum* та 15,6 мкг/см<sup>3</sup> – *R. cerealis*.

Використовуючи метод вимірювання лінійного росту колоній, досліджено динаміку росту колоній *F. oxysporum* за дії зразків сполук естерів тіосульфоїкислот і їхніх комплексів з ТВІН-80 у концентрації 0,007% та 0,07% і встановлено показники відсотка інгібування росту міцелію гриба.

За дії 0,07% ЕТС+ТВІН, ПТС+ТВІН, МТС+ТВІН, АТС+ТВІН показник інгібування росту міцелію *F. oxysporum* становив 52,1 %; 50 %; 50,4 % та 37 %, відповідно, порівняно з контролем. Проте пригнічення росту міцелію у концентрації 0,007% спостерігали тільки за дії комплексу МТС+ТВІН на 20,6 %.

Отже, результати досліджень свідчать про перспективність подальшого вивчення та практичного застосування розроблених комплексів на основі естерів 4-амінобензентіо-сульфоїкислоти і ТВІН-80 для створення ефективного препарату фунгіцидної дії для боротьби з фітопатогенами.

**Козак Т., Лихова О., Видасов Н., Лупан В.**

**КОМПЛЕКСНИЙ ВПЛИВ ВІРУСУ ХВОРОБИ НЬЮКАСЛА ШТАМУ LASOTA І ПРОТИПУХЛІННИХ ПРЕПАРАТІВ НА КЛІТИНИ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ IN VITRO**

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. С. Кавецького НАН України  
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна  
kozaktamara.work@gmail.com

**Kozak T., Lykhova A., Vydasov N., Lupan V.** THE COMPLEX INFLUENCE OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS AND ANTITUMOR DRUGS ON HUMAN PROSTATE CANCER CELLS IN VITRO. Combinations of rarely used for prostate cancer (PC) chemotherapy and Newcastle disease virus (NDV) with cancer cell's target can be an alternative way to increase the treatment effectiveness of PC. We found that the complex influence of NDV with vincristine or cisplatin can be synergetic or antagonistic depends on the agent's concentrations. We found the correlation

between the expression of the proliferation and pro-apoptotic markers, and cytotoxic activity of the tested agents combination.

Рак передміхурової залози (РПЗ) - це найпоширеніша форма онкологічного захворювання серед чоловіків. Крім того, клітини РПЗ можуть бути нечутливими або набувати резистентності до хіміотерапії у процесі лікування (Nader, 2018). Це призводить до необхідності пошуку альтернативних шляхів боротьби із РПЗ, окрім традиційних цитостатиків (таксанів). Цікавим у цьому плані є поєднання хіміотерапії, що зазвичай не входить до протоколів лікування РПЗ (Liaw, 2018), та віротерапії. Зокрема, вірус хвороби Ньюкасла (NDV) має пряму цитотоксичну дію на пухлинні клітини та здатний викликати синтез протипухлинних та імуномодуючих цитокінів, а вакцинний штам NDV LaSota є найбільш низькопатогенним для людського організму.

Метою нашої роботи було дослідити вплив NDV LaSota і його комбінацій з протипухлинними препаратами (ПП) (вінкристин (V) та цисплатин (CP)) на проліферацію та життєздатність клітини РПЗ людини лінії LNCaP. З метою пошуку механізмів комплексної дії агентів проаналізували експресію маркерів проліферації (Ki-67) та апоптозу (Bcl-2 та Вах) в досліджуваних клітинах. Було показано, що лише високі концентрації NDV (40-5 ГАО/мл для CP та 20-10 ГАО/мл для V) у комплексі з ПП виявляли цитостатичний/цитотоксичний синергічний ефект на клітинах LNCaP. Наприклад, після обробки клітин LNCaP NDV у концентрації 10 ГАО/мл кількість живих клітин становила  $62,03 \pm 4,95$  %; для  $0,31$  нг/мл V у монорежимі -  $74,45 \pm 2,43$  %, а за комплексного застосування у зазначених концентраціях -  $38,90 \pm 2,59$  %. У групі, де клітини LNCaP культивували за наявності  $1,25$  мкг/мл CP, спостерігали  $53,04 \pm 4,12$  % живих клітин, після обробки  $10$  ГАО/мл NDV -  $69,33 \pm 2,89$  %, а за комплексного застосування -  $35,19 \pm 2,20$  %.

Для пошуку механізмів цитотоксичної дії досліджуваних агентів методом імуноцитохімії визначали вплив комплексної дії NDV та ПП на експресію маркера проліферації Ki-67 і апоптоз-асоційованих протеїнів Bcl-2 та Вах. Показано, що за комплексного застосування NDV і CP зменшується експресія маркера Ki-67, порівняно з монорежимом, у 2-2,5 разу. Разом з тим, за умов комплексної дії NDV та V спостерігали збільшення кількості Ki-67<sup>+</sup> клітин, порівняно з монорежимом.

Отримані результати свідчать, що NDV та ПП суттєво не впливають на рівень експресії анти-апоптичного білка Bcl-2, однак NDV у високій концентрації в комплексі з ПП призводив до підвищення експресії проапоптотичного білка Вах на 40 % і більше, порівняно із монорежимами. Отже, отримані результати дають підстави припустити, що NDV може посилювати або послаблювати активність ПП на клітинах LNCaP, а отримані ефекти залежать переважно від механізму дії ПП та концентрації вірусу або хіміопрепарату. Зазначені зміни реалізуються, на нашу думку, саме за рахунок впливу досліджуваних агентів на проліферативну активність клітин РПЗ.

**Кондратюк В., Галушка А.**

#### ОЦІНКА ЗДАТНОСТІ РІЗНИХ ВИДІВ ДРІЖДЖІВ ДО РЕДУКЦІЇ ХРОМАТУ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна*

*kondratiuk123456@gmail.com*

**Kondratiuk V., Halushka A.** EVALUATION OF THE ABILITY OF DIFFERENT YEAST SPECIES TO CHROMATE REDUCTION. A number of microorganisms (yeast, bacteria, fungi) are able to reduce chromate and convert it to stable non-toxic forms. Such strains can be used to purify the environment as well as to obtain chromium nanoparticles by "green synthesis". Reductive activity of cultivation medium and cells has been tested in 48 species of yeasts belonging to genera *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Phaffia*, *Endomyces*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomycodes* and others as well as 11 chromium-resistant insertion mutants of the yeast *Candida famata*.

Низка мікроорганізмів (дріжджів, бактерій, грибів) здатна адсорбувати й акумулювати сполуки хрому, а також перетворювати їх на стабільні нетоксичні форми. Одним із важливих механізмів детоксикації хрому й вилучення його з навколишнього середовища є процес відновлення мікроорганізмами Cr(VI) до Cr(III), який є менш токсичним, а методи його усунення - простішими. Серед дріжджів, виділених із забруднених хроматом стічних вод, знайдено штами з високою хроматредукуючою активністю. За допомогою методів класичної генетики також отримано резистентні до хрому мутанти з високою хроматредуктажною активністю. Встановлено, що у дріжджів важлива роль у детоксикації хрому належить власне позаклітинній редукції. Штами дріжджів із високою хроматредуктажною активністю можна використати для вилучення хрому з доквілля, а також для отримання наночастинок хрому шляхом «зеленого синтезу».

Метою роботи було дослідити процес редукції хрому штамами дикого типу різних видів дріжджів і хромат-резистентними мутантами з колекції мікроорганізмів Інституту біології клітини НАН України.

Редуктазну активність перевірено у 48 видів дріжджів родів *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Saccharomycopsis*, *Kluveromyces*, *Phaffia*, *Sporopachidermia*, *Endomyces*, *Rhodotorula*, *Trigonopsis*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomycodes*, а також у 11 хромат-резистентних інсерційних мутантів дріжджів *Candida famata*. Перевірено здатність досліджуваних видів дріжджів до відновлення

трифенілтетразолій хлориду, здатність до відновлення хромату культуральною рідиною та клітинами. Високу хроматредуктазну активність культуральної рідини виявлено у 2 штамів *Saccharomycopsis fibuligera*, 2 штамів *Saccharomycodes ludwigii*, *Kluveromyces bulgaricus*, *Endomyces magnusii*, *Debaryomyces dispersus*, *Cryptococcus laurentii*, *C. himalayensis*, *C. laurentii var flavescens*, *C. flavus*, *Candida kefir*, *Rhodotorula pilimanae*, *Phaffia rhodoryta* та у всіх Cr(VI)-резистентних інсерційних мутантів дріжджів *Candida famata*. Штами з найвищою хроматредуктазною активністю буде використано для підбору умов для отримання наночастинок хрому.

**Кулик Я.<sup>1,2</sup>, Сіромолот А.<sup>1,2</sup>, Колибо Д.<sup>2</sup>**

**ПОРІВНЯННЯ АНТИГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ  
РЕКОМБІНАНТНИХ ПОХІДНИХ ДИФТЕРІЙНОГО ТОКСИНУ**

<sup>1</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України

вул. Леонтовича, 9, Київ, 01030, Україна

<sup>2</sup>ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

просп. Академіка Глушкова, 2, Київ, 03022, Україна

yaroslava7kulik@gmail.com

**Kulyk Ya., Siromolot A., Kolybo D.** COMPARISON OF ANTIGENIC PROPERTIES OF RECOMBINANT PROTEINS OF DIPHTHERIA TOXIN. Diphtheria is dangerous and highly lethal infection disease caused by the bacterium *Corynebacterium diphtheriae*. New cases of this disease are still occurring in the whole world. Therefore, we decided to develop a test system based on ELISA for monitoring of the tense anti-diphtheria immunity of human population. We carried out immunization of laboratory mice with purified recombinant proteins - SbA, SbB, R-domain, CRM197 and ADT and compared the levels of serum IgG. According to the results of our study, the most immunogenic molecule and prospective candidate for ELISA test antigen is CRM197.

Дифтерія - це висококонтагіозна та небезпечна для життя бактеріальна токсин-опосередкована хвороба, збудником якої є токсигенні штами *Corynebacterium diphtheriae*. Збудник дифтерії та його основний фактор вірулентності - дифтерійний токсин (ДТ) - досить добре вивчені, проте випадки цього захворювання досі виникають по всьому світу.

Спалах дифтерії в Україні минулого року можна пояснити відмовою від вакцинації або необізнаністю населення в тому, що необхідно проходити періодичні ревакцинації відповідно до національного календаря щеплень.

Швидкий прогресуючий розвиток інфекційного процесу в організмі людини та висока летальність вказують на необхідність вакцинації/ревакцинації, створення експрес-тестів для контролю протидифтерійного імунітету й удосконалення методів діагностики хвороби на ранніх стадіях.

Метою дослідження є розробка тест-системи на основі імуноензимного аналізу (ІЕА) для визначення напруженості імунітету людини до дифтерії та контролю ефективності щеплення, тобто кількісної оцінки антитіл до ДТ в сироватці крові. Завданням цієї роботи було охарактеризувати й порівняти рівні IgG у сироватці крові лабораторних мишей після імунізації очищеними рекомбінантними аналогами ДТ та його фрагментів: субодиноцею А (SbA), субодиноцею В (SbB), R-доменом, нетоксичним токсоедом CRM197 і анатоксином (ADT). Рекомбінантні антигени було одержано, очищено та проаналізовано методами метал-афінної хроматографії на Ni<sup>2+</sup>-NTA агарозі та ДСН-ПААГ електрофорезу, визначення рівнів IgG виконано непрямим твердофазним ІЕА.

Для кожного антигену рівні антитіл у сироватці крові оцінювали на основі показника індексу оптичної щільності (ODI - optical density index) (Лященко та ін., 1998).

Найнижчі рівні антитіл були виявлені до SbA (ODI  $\geq$  1,1) та R-домену (ODI  $\geq$  2,5), що може свідчити про слабкі імуногенні властивості зазначених антигенів через відсутність діагностично важливих епітопів. Значно вищим показником характеризується SbB (ODI  $\geq$  7,4), яка є ключовою у формуванні гуморальної імунної відповіді за імунізації лабораторних тварин еквімолярною сумішшю SbB та SbA (ODI  $\geq$  11). Порівнюючи результати, отримані при тестуванні ADT (ODI  $\geq$  10,5), суміші SbA та SbB (ODI  $\geq$  11) та CRM197 (ODI  $\geq$  14,9), ми дійшли висновку, що найкращими імуногенними властивостями характеризується CRM197. Обчислення коефіцієнта кореляції показало, що CRM197 (0,809) має більш подібні антигенні властивості до ДТ, ніж ADT (0,499).

Таким чином, нами обрано CRM197 на роль антигенної субстанції майбутньої тест-системи для оцінки рівнів протидифтерійних антитіл і контролю напруженості імунітету проти дифтерії у населення.

**Кулішко Н., Ішчак О., Булка І., Комплікевич С., Масловська О., Гнатуш С.**

**ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ БАКТЕРІЙ *RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII* ІМВ В-7620  
ЗА ВПЛИВУ ФЕРУМ (III) ЦИТРАТУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

natalia.kulichko@gmail.com

**Kulichko N., Ishchak O., Bulka I., Komplikevych S., Maslovska O., Hnatush S.** OXIDATIVE PROTEIN MODIFICATION OF BACTERIA *RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII* ІМВ В-7620 UNDER THE INFLUENCE



OF FERRIC CITRATE. Investigation of the change in the content of carbonyl groups in proteins of *Rhodospseudomonas yavorovii* IMB B-7620 during the growth in the medium with 1–12 mM of ferric citrate showed an increase in the content of these compounds in cell-free extract of bacteria at 7-th day of cultivation, compared with control. The content of carbonyl groups in proteins in the cell-free extract of bacteria was dependent on the concentration of ferric citrate and duration of bacterial cultivation. Formation of carbonyl groups in proteins can be due to the action of both: the reactive oxygen species and the products of lipid peroxidation and other oxidation processes in cells.

*Rhodospseudomonas yavorovii* IMB B-7620 – це пурпурові несіркові бактерії, виділені з озера Яворівське, вода якого містить підвищені концентрації сполук сульфуру та іонів деяких важких металів, у т. ч. іонів феруму (III) (Тарабас та ін., 2018). Завдяки гнучкому метаболізму фотосинтезувальні пурпурові бактерії відіграють значну роль у глобальних біогеохімічних циклах карбону, сульфуру і нітрогену (Тарабас та ін., 2017). Ферум є одним із найпоширеніших металевих елементів. Він необхідний для підтримання життя всіх організмів, оскільки задіяний у життєво необхідних метаболічних шляхах як кофактор. Однак він має біологічно небезпечні властивості, оскільки каталізує утворення активних форм кисню (АФО). Токсичність іонів феруму ґрунтується на реакціях Хабера–Вайса та Фентона (Paranikolaou, 2005; Repetto, 2012). Іони феруму (III) в середовищі для культивування бактерій стимулюють утворення органічних активних метаболітів, таких як пероксид ( $\text{ROO-}$ ) і алкоксил ( $\text{RO-}$ ), та пероксидних радикалів (Paranikolaou, 2005). АФО зумовлюють пошкодження різних компонентів клітин, зокрема, білків, і призводять до їхньої окисної модифікації. За окисної модифікації білків порушується структура бічних амінокислот і поліпептидного скелета протеїну, внаслідок чого утворюються радикальні та нерадикальні похідні амінокислот (Levine, 1996; Sasindran, 2007). Це призводить до порушення нормального функціонування та загибелі клітин, що небажано для біотехнологічних процесів. Метою роботи було дослідити вплив ферум (III) цитрату на процеси окисної модифікації білків бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620.

Окисну модифікацію білків бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 за впливу ферум (III) цитрату оцінювали за вмістом карбонільних груп (КГ) білків у безклітинному екстракті цих бактерій. Для цього бактерії *R. yavorovii* IMB B-7620 вирощували у модифікованому поживному середовищі ATCC №1449 (джерело карбону – натрій цитрат) упродовж 14 днів із внесенням у середовище ферум (III) цитрату в концентраціях 1, 3, 6, 9, 12 мМ. Вміст карбонільних груп визначали у реакції із 2,4-динітрофенілгідразином (Мосійчук та ін., 2014).

У контролі вміст КГ білків у безклітинному екстракті бактерій був найвищим на 7 добу культивування і знижувався з подальшим культивуванням. Внесення у середовище культивування бактерій ферум (III) цитрату в концентраціях 1–9 мМ призводило до значного збільшення вмісту КГ на 7 добу культивування. Найвищий вміст карбонільних груп (КГ) білків бактерій *R. yavorovii* IMB B-7620 був на 7 добу культивування за 6 мМ ферум (III) цитрату і перевищував контроль у 35,6 разу. Збільшення тривалості культивування бактерій до 14 діб спричинило зниження вмісту КГ у безклітинному екстракті. Зростання вмісту КГ білків за впливу ферум (III) цитрату може бути результатом прямої чи опосередкованої дії вільних радикалів, які утворюються за наявності іонів феруму. Тому доцільним буде подальше дослідження процесів ПОЛ цих бактерій.

**Лехнюк Н.<sup>1</sup>, Граб П.<sup>1</sup>, Боднар Л.<sup>1</sup>, Конечний Ю.<sup>2</sup>**

#### ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕЛЕВИХ АНТИСЕПТИКІВ ДЛЯ РУК

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

<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, Україна  
nadiya.lekhniuk@lnu.edu.ua

**Lekhniuk N., Hrab P., Bodnar L., Konechnyi Y.** STUDY OF GEL HAND SANITIZERS ANTIMICROBIAL ACTIVITY. This research aimed to study the antimicrobial activity of 22 gel hand sanitizers, which are available in Ukraine and European Union chain stores, against multi-drug resistant clinical strains of infective agents (Gram-positive, Gram-negative, and fungi). The results have shown that only 5 of them (22.7 %) are truly active, 12 (54.5 %) are showing indistinct, but adequate, activity, 2 (9.1 %) are showing inferior activity, and 3 (13.7 %) are entirely inactive.

Дві останні декади характеризуються раптовими та масовими спалахами інфекційних захворювань із контактним і фекально-оральним механізмом передачі, незважаючи на стрімкий розвиток медицини й покращення загальних санітарно-гігієнічних умов життя та праці. Постійно наростаючий темп життя спричинив обширне ігнорування людьми базових гігієнічних звичок, зокрема, миття рук. Однією з альтернатив нині виступає застосування різноманітних антисептичних засобів: спреїв, гелів, серветок. Проте в Україні вихід таких товарів на ринок не має чіткого регулювання та переважно стосується лише засобів, що застосовуються у професійних практиках.

Метою даної роботи було дослідити протимікробну активність гелевих антисептиків, придбаних у торгових мережах на території України та деяких країн Європейського Союзу (ЄС) (Литва, Німеччина, Польща, Фінляндія, Чеська Республіка).

Перевірку протимікробної активності проводили на полірезистентних до антибіотиків клінічних ізолятах збудників інфекційних захворювань: *Aerococcus viridans*, *Brevundimonas vesicularis*, *Candida non-albicans* №60, *C. non-albicans* №67, *Citrobacter sedlakii*, *Escherichia coli*, *Raoultella terrigena* та *Staphylococcus lentus*.

Визначення чутливості до антисептичних засобів проводили безпосереднім нанесенням краплі засобу на агар з використанням стандартних поживних середовищ (агар Мюллера-Хінтона й агар Сабуро). У досліді використовували антисептичні гелі таких торгових марок: «Vital Charm», «Aromal», «Доктор Біокон», «Colour Intense», «PocketBac», «Miniso», «Лягосепт М», «Gloss» (придбані на території України), «Amaté», «Naturaphy», «Dettol», «Lilien», «Pharma Oil», «Eurocare», «Cuticura», «Balea», «Cien», «Dulgon», «Sanytol», «Dermo pHarma+», «LV» та «Pure-Klenz» (придбані на території ЄС). Як контроль використовували 70% розчин етилового спирту і засіб «АХД-2000» на основі ізопропілового спирту. Висновок щодо протимікробної дії робили із наявності чи відсутності росту культури на місцях нанесення засобів.

Результати показали, що із 22 досліджених засобів п'ять («Amaté», «Naturaphy», «Lilien», «Sanytol» та «LV») продемонстрували чітко виражену активність проти всіх досліджуваних культур мікроорганізмів; п'ять («Miniso», «Eurocare», «Cien», «Dulgon» та «Dermo pHarma+») були дієвими щодо Грам (-) ізолятів і грибів, проте малоефективними щодо Грам (+) ізолятів; чотири («Dettol», «Доктор Біокон», «PocketBac» та «Лягосепт М») були активними щодо Грам (+) ізолятів і грибів, але малоефективними щодо Грам (-) ізолятів; три («Pharma Oil», «Cuticura» та «Gloss») показали виразну протигрибкову дію, проте слабку активність щодо Грам (+) і Грам (-) ізолятів; два («Balea» та «Pure-Klenz») продемонстрували чітку активність лише щодо Грам (-) ізолятів; три («Vital Charm», «Aromal» і «Colour Intense») не продемонстрували жодної антисептичної дії.

Отже, у ході роботи було показано, що лише 5 (22,7 %) засобів є дієвими проти всіх досліджуваних мікроорганізмів і можуть застосовуватись як альтернативний засіб щоденної гігієни рук, 12 засобів (54,5 %) демонструють варіабельну активність, та вона лишається задовільною, 2 засоби (9,1 %) є малоактивними і не відповідають властивостям, що зазначає виробник, а 3 засоби (13,7 %) не показали жодної протимікробної дії. Серед них з антисептичних гелів, придбаних в Україні, 5 (62,5 %) демонстрували слабку активність, а 3 гелі (37,5 %) були повністю неактивними.

Серед засобів, придбаних на території ЄС, 12 (83,3 %) мали чітко виражену чи задовільну протимікробну дію, а 2 (16,7 %) – слабку або обмежену.

**Мудрікув Д., Яворська Г., Мороз О., Гнатус С., Квас І., Добрянська І.**

**ВИКОРИСТАННЯ БАКТЕРІЯМИ *DESULFUROMONAS* SP. ФЕРУМ (III) ЦИТРАТУ  
ЯК АКЦЕПТОРА ЕЛЕКТРОНІВ ЗА ВПЛИВУ ЙОНІВ НІТРАТУ ТА НІТРИТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
dianamudrikuv@gmail.com*

**Mudrikuv D., Yavorska G., Moroz O., Hnatush S., Kvas I., Dobrianska I.** USAGE OF FERRUM (III) CITRATE AS ELECTRON ACCEPTOR BY BACTERIA *DESULFUROMONAS* SP. UNDER THE INFLUENCE OF NITRATE AND NITRITE IONS. Ferrum (III) citrate at concentration of 3.47 mM in the medium revealed the toxic effect on nitrate and nitrite reduction by *Desulfuromonas* sp. bacteria. The strains are adapted to high concentrations of ferrum (III) citrate. They are highly promising for applications in technologies of environment purification from heavy metal and nitrogen compounds, as the bacteria strains are capable of active transformation of the above-mentioned pollutants.

Сірководновловальні бактерії є важливою ланкою природного циклу сульфуру. Вони здійснюють дисиміляційне відновлення сірки, нітратів або нітритів і зв'язують потоки карбону, нітрогену й сульфуру в анаеробних зонах водойм (An & Picarda, 2015). Ці бактерії поширені у природі в місцях із низьким окисно-відновним потенціалом. Найдоступнішим джерелом нітрогену для сірководновловальних бактерій є йони амонію, які утворюються ними внаслідок азотофіксації або відновлення нітратів чи нітритів (Morozkina & Zvyagil'skaya, 2007). Особливо важливу роль вони відіграють у місцях розробки сіркових родовищ, забруднених сполуками сульфуру та важких металів (Козлова та ін., 2008). Бактерії роду *Desulfuromonas*, окрім сірки чи окиснених форм нітрогену, можуть використовувати окиснені форми важких металів, зокрема, ферум (III) як кінцеві акцептори електронів (Moroz et al., 2014; Moroz et al., 2016; Hnatush et al., 2018). Метою роботи було дослідити закономірності використання бактеріями *Desulfuromonas* sp., виділеними з озера Яворівське, нітрат- або нітрит-йонів за одночасної наявності в середовищі іншого акцептора електронів – феруму (III).

Бактерії *Desulfuromonas acetoxidans* IMB B-7384, *Desulfuromonas* sp. Yavor-5 та *Desulfuromonas* sp. Yavor-7 вирощували в середовищі Кравцова-Сорокіна без  $\text{SO}_4^{2-}$  за анаеробних умов і за 30 °С. Бактерії висівали ( $10^8$  КУО/мл) у середовища з  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (17,86 мМ), до яких додавали стерильні 1 М розчини  $\text{NaNO}_3$  чи  $\text{NaNO}_2$  до концентрацій: 1,74; 3,47; 5,21; 6,94; 10,41 мМ та 1 М розчин  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  - до концентрації 3,47 мМ. Клітини також висівали у середовища з 3,47 мМ  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$  або ферум (III) цитратом як єдиним акцептором електронів. Рівень відновлення йонів нітрату, нітрититу або феруму (III) вивчали після їхнього внесення у середовище без клітин. На 10 добу визначали біомасу, вміст  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ , Fe(III),  $\text{Fe}^{2+}$  або  $\text{NH}_4^+$  у культуральній рідині (Гудзь та ін., 2014).

Якщо вносили в середовище культивування *Desulfuromonas* sp.  $\text{NaNO}_3$  за усіх концентрацій і  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ , то фіксували зниження ефективності відновлення  $\text{NO}_3^-$  бактеріями (64,9 %), порівняно з відновленням  $\text{NO}_3^-$  у

середовищі лише з  $\text{NaNO}_3$  (95,7 %). Ефективність відновлення феруму (III) бактеріями в середовищі з  $\text{NaNO}_3$  за всіх концентрацій та  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (58,5 %) виявилася нижчою, ніж у середовищі лише з  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (96,0 %). За внесення у середовище культивування бактерій  $\text{NaNO}_2$  за всіх концентрацій і  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  спостерігали зниження ефективності відновлення  $\text{NO}_2^-$  бактеріями (64,0 %), порівняно з відновленням нітритів у середовищі лише з  $\text{NaNO}_2$  (97,7 %). Ефективність відновлення феруму (III) бактеріями в середовищі з  $\text{NaNO}_2$  за всіх концентрацій і  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (82,1 %) виявилася нижчою, ніж у середовищі лише з  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (95,4 %).

Отже, ферум (III) цитрат за концентрації 3,47 мМ у середовищі виявив токсичну дію на нітрат- і нітритредукцію, яку здійснювали бактерії *Desulfuromonas* sp. Виділені штами є адаптованими до високих концентрацій  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ . Вони перспективні для застосування у технологіях очищення довкілля від сполук важких металів і нітрогену, оскільки здатні до активної відновної трансформації цих поллютантів.

**Пошелюк А., Горшкова О., Радиш Н., Волювач О.**

#### ФЕНОЛ-ОКИСНЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІЙ *BACILLUS SUBTILIS*

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

lavellan995@gmail.com

**Poshelyuk A., Gorshkova O., Radysh N., Voliuvach O.** PHENOL-OXIDATIVE ACTIVITY OF BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS*. The phenoloxidative activity of *B. subtilis* strain isolated from sewage from pharmaceutical production determined. The degree of destruction of phenol reached 97%. The residual concentration of phenol in water decreased from 200 mg / l to 6 mg / l on the 8th day of observation.

Проблема забруднення природних об'єктів органічними відходами техногенного походження стає дедалі гострішою. Лікарські й антисептичні засоби на основі фенольних сполук надходять у навколишнє середовище, де справляють ефекти стійких поллютантів. (Войцехівська та ін., 2015). Тому сьогодні важливою є розробка біотехнологій очищення стічних вод із використанням біохімічно-активних непатогенних мікроорганізмів, здатних споживати фенольні сполуки як єдине джерело карбону та енергії (Gudzenko et al., 2018; Гудзенко та ін., 2020).

Метою нашої роботи було дослідити фенол-окиснювальну активність штаму бактерій *Bacillus subtilis*, ізольованого зі стічних вод фармвиробництва.

Для оцінки феноокиснювальної здатності культуру *B. subtilis* вирощували у поживному середовищі М-9 із додаванням фенолу як єдиного джерела карбону. Визначення залишкової концентрації фенолу проводили з використанням 4-аміноантипірину і калій гексаціаноферату (III). Вихідну концентрацію фенолу в модельних водних розчинах варіювали від 200 до 300 мг/л, збільшуючи зі зростанням концентрації фенолу концентрацію клітин у пробі на порядок. Для вивчення біологічних властивостей штаму використовували класичні бактеріологічні методи.

У результаті досліджень встановлено, що штам *B. subtilis*, ізольований у 2017 р. зі стічних вод українського виробництва фармацевтичних препаратів, представлений спороутворювальними великими рухливими грампозитивними, каталазопозитивними, оксидазонегативними паличками із закругленими кінцями, що гідролізують крохмаль і сечовину, не відновлюють нітрати до нітритів; не розріджують желатин, не ферментують лактозу, мальтозу, арабінозу, галактозу, рамнозу.

Штам *B. subtilis* мав фенолоокиснювальну здатність – через 6 діб експозиції ступінь вилучення фенолу з модельного розчину сягав 78 %. Залишкова концентрація фенолу у воді знижувалася з 200 до 44 мг/л. Наші подальші кінетичні дослідження з біодеструкції фенолу штамом *B. subtilis*, виділеним зі стічної води фармацевтичного виробництва, показали, що на 8 добу спостерігається максимальна деструкція фенолу за наявності штаму *B. subtilis* - концентрація фенолу у воді знижувалася до 6 мг/л. В обраних нами умовах проведення процесу біологічного очищення води від фенолу (концентрація бактеріальних клітин  $\times 10^3$  КУО/мл, температурний режим 20 °С, рН 7,0-7,2) за наявності штаму *B. subtilis* процес дефенолізації води був високоефективним - ступінь деструкції фенолу сягав 97 %.

**Радиш Н., Пошелюк А., Горшкова О., Волювач О.**

#### БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМУ БАКТЕРІЙ *AEROMONAS ICHTHIOSMIA* ONU552 - ДЕСТРУКТОРА ФЕНОЛУ

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна

radysh1998@ukr.net

**Radysh N., Poshelyuk A., Gorshkova O., Voliuvach O.** BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIA – DESTRUCTORS OF PHENOLS *AEROMONAS ICHTHIOSMIA*. The fatty acid profile of the ONU552 strain isolated from pharmaceutical wastewater, was found to be monounsaturated 9-hexadecenoic (16: 1 w7c) and 10-hexadecenoic (16: 1 w6c) acids. Based on the biological properties and fatty acid composition of cellular lipids, was established belonging to strain ONU552 – *Aeromonas ichthiomia* ONU552 – phenol destructor.

Небезпека надходження фенольних сполук зі стічними водами у навколишнє середовище пов'язана з їхньою токсичністю для біологічних об'єктів і стійкістю до розкладання. Мікробіологічна детоксикація є перспективним методом очищення навколишнього середовища, у процесі якої відбувається розщеплення ароматичного кільця й утворення нетоксичних сполук - вуглекислоти і води (Севастьянов, 2012; Шестеренко і др., 2012). На сьогодні актуальною проблемою залишається розробка нових екологічно безпечних біотехнологій очищення стічних вод від фенолу (Филипчук, 2003).

У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчити біологічні властивості й жирно-кислотний склад ліпідів штаму *Aeromonas ichthiomia* ONU552 - деструктора фенолу.

Об'єктом дослідження був штам бактерій *A. ichthiomia* ONU552, виділений зі стічних вод фармацевтичного підприємства. Попередні експерименти показали, що він має фенол-деструктивну активність. Для вивчення біологічних властивостей бактерій *A. ichthiomia* ONU552 було використано класичні бактеріологічні методи й тест-системи API 50 CHB Medium (bioMerieux, Франція). Для дослідження складу жирних кислот клітинних ліпідів було застосовано сучасний метод газової хроматографії з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock (США). Хроматографічне розділення метилових ефірів жирних кислот проводили на газовому хроматографі Agilent 7890.

Вивчення біологічних властивостей штаму Ф2 показало, що він представлений грам-негативними, оксидазо- і каталазопозитивними, рухливими, прямими паличками з закругленими кінцями розміром 0,5x2,5 мкм. У мазках вони розташовувалися поодинокі. Штам ONU552 добре ріс на простих поживних середовищах – МПА, МПБ, пептонізованому мінеральному середовищі М-9 за 30 °С, рН 7,0. Бактерії ферментували глюкозу, мальтозу, трегалозу (з утворенням кислоти), крохмаль, гліцерин, желатин, казеїн, продукували оксидазу, каталазу, фосфатазу, редукували нітрати, не ферментували інозит, ксилозу, сечовину. В жирнокислотному профілі штаму ONU552 були наявні 22 жирні кислоти з числом атомів карбону від 10 до 18. Особливість штаму *A. ichthiomia* ONU552 - наявність у його жирнокислотному профілі мононенасичених 9-гексадецевої (16:1 w7c) і 10-гексадецевої (16:1 w6c) кислот.

**Висновок.** Біологічні властивості та жирнокислотний склад клітинних ліпідів підтвердили належність штаму ONU552 - деструктора фенолу, виділеного зі стічних вод фармацевтичного виробництва, до виду *Aeromonas ichthiomia*.

**Сакуліч Х., Микитин М., Качмар Н., Галушка А., Менів Н., Гнатюш С.**

**ВЛАСТИВОСТІ ОЛІГОТРОФНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ЧОРНОЇ ПОРОДИ З ВІДВАЛУ ЦЕНТРАЛЬНОЇ ЗБАГАЧУВАЛЬНОЇ ФАБРИКИ «ЧЕРВОНОГРАДСЬКА»**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
khrystynasakyluchy@gmail.com*

**Sakulych K., Mykytyn M., Kachmar N., Halushka A., Meniv N., Hnatysh S.** PROPERTIES OF OLIGOTROPHIC MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE BLACK ROCK OF CENTRAL ENRICHMENT FACTORY “CHERVONOGRADSKA” SPOIL HEAP. Three strains of actinobacteria with fragmented substrate and aerial mycelium are isolated from the black rock of Central Enrichment Factory “Chervonogradska” spoil heap. One of them is identified as *Streptomyces* sp. Three strains of actinobacteria and one strain of Gram-negative chemoorganotrophic facultatively microaerophilic rods, 2x0.99 μm, which form cysts and are able to fix molecular nitrogen, were isolated from the control sample.

Червоноградський гірничопромисловий район Львівсько-Волинського кам'яновугільного басейну створює велике екологічно небезпечне навантаження, оскільки 211 га відведено під відвали порід. Породний відвал Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська» має площу 76 га і висоту 68 м (Сторожук та ін., 2005). Субстрати відвалу характеризуються незадовільними гідрологічними й агрохімічними показниками, низьким вмістом органічних речовин (1–2 %). Вміст іонів важких металів у багато разів перевищує ГДК, водні стоки з відвалу мають високу кислотність (рН 2,7–3,5) за рахунок утворення сульфатної кислоти внаслідок окиснення піриту (1–4%) (Кофанов та ін., 2002). Кількісний і якісний склад мікроорганізмів вугільних відвалів змінюється залежно від хімічного складу, фізичних властивостей, рН середовища, вмісту в них повітря, вологи та поживних речовин.

Завдяки діяльності мікроорганізмів відбувається мінералізація органічних залишків і безперервне надходження в атмосферу CO<sub>2</sub>, який використовують у процесі фотосинтезу автотрофні організми (Ярошко, 2013). Дослідження складу мікробіоценозів породних відвалів має важливе значення для розуміння сукцесійних процесів у відвалах і розробки заходів з їхньої рекультивативної.

Досліджено морфологічні, фізіологічні та біохімічні властивості оліготрофних мікроорганізмів, виділених з чорної породи з відвалу Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська». Усі три виділені штами виявились актинобактеріями, що утворюють субстратний і повітряний міцелій. Субстратний міцелій фрагментований, а повітряний - містить ланцюжки конідій.

Клітини одного з досліджуваних штамів містять LL-діамінопімелінову кислоту, ці бактерії за морфологічними та біохімічними властивостями ідентифіковано як представників роду *Streptomyces*. Другий штам досліджуваних актинобактерій діамінопімелінової кислоти не містить.

Із контрольного зразка, відібраного поблизу ризосфери очерету звичайного (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) біля досліджуваного відвалу, виділено 4 штами бактерій. Три з них були актинобактеріями, подібними за морфологічними властивостями до бактерій, виділених із чорної породи. Четвертий штаб – це грамнегативні хемоорганотрофні факультативно мікроаерофільні палички, що утворюють цисти розміром  $2 \times 0,99$  мкм, здатні фіксувати азот.

**Сковородка М., Акуленко І., Суслов Г., Сергійчук Т., Толстанова А.**

ОКСАЛАТДЕГРАДУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ НОВОВИДІЛЕНИХ ШТАМІВ  
РОДУ *LACTOBACILLUS*

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

просп. Академіка Глушкова, 2, Київ, 02000, Україна

tuchishe@gmail.com

**Skovorodka M., Akulenko I., Suslov H., Serhiychuk T., Tolstanova G.** OXALATE-DEGRADING ACTIVITY OF NEWLY ISOLATED *LACTOBACILLUS* SPP. STRAINS. Excessive amounts of oxalate in the human body can be the cause of hyperoxaluria. Probiotic bacteria with prominent oxalate-degrading properties can be used as a preventive and therapeutic method against hyperoxaluria. Among isolated 27 strains of *Lactobacillus* spp. only 4 have been proven with oxalate-degrading properties therefore are suitable for further experiments as potential probiotic strains.

Розповсюдженою причиною захворювання на сечокам'яну хворобу (уролітіаз) є надмірна екскреція через нирки оксалату – гіпероксалурія. Близько 80 % виявлених каменів складаються з нерозчинних оксалатних солей. Однією із причин появи гіпероксалурії є зменшення оксалотрофів у мікробіомі кишківника, тому одним з актуальних напрямів терапії та профілактики уролітіазу та гіпероксалурії є пошук пробіотичних штамів бактерій, здатних до оксалатредукції. Серед відомих представників бактерій до деградації оксалату здатні *Oxalobacter formigenes*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium* і деякі інші.

Мета: виділити штами бактерій, здатні до оксалат редукції, та визначити їхню максимальну оксалатдеградувальну активність залежно від фази онтогенезу.

Об'єктами дослідження були нововиділені штами зі здатністю до деструкції оксалату. Штами виділяли з домашніх кисломолочних продуктів на середовищі MRS Agar. Здатність до деградації оксалату досліджували упродовж 122 годин на середовищах Oxalate Medium Agar (ОхМ Agar, містить  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  у кількості 5 г/л, як єдине джерело карбону) та MRS Agar+Ох (містить  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  у кількості 5 г/л) із паралельним визначенням фази росту культури (з використанням фотоелектроколориметра,  $\lambda = 540$  нм). Залишкову кількість оксалату в середовищі (оксалатдеградувальну активність, ОДА) оцінювали редоксиметричним титруванням із  $\text{KMnO}_4$ .

Із кисломолочних продуктів на середовищі MRS Agar було виділено 27 штамів молочнокислих бактерій, які за морфолого-фізіологічними особливостями належать до роду *Lactobacillus*. Під час первинного пересіву на середовище ОхМ Agar здатність до росту виявили 5 штамів, але за подальшого пересівання лише 4 штами залишилися життєздатними. Показали, що на середовищі MRS Agar+Ох для трьох штамів деструкція оксалату починалася з 27 години культивування і становила від 4 до 16 %, а для одного штаму дана активність зафіксована на 8 годину культивування (ОДА 14 %). Через 48 год культивування деградація оксалату на середовищі MRS Agar+Ох припинялася з максимумом ОДА 16 %. На середовищі ОхМ деградація оксалату починалася лише через 48 год від початку культивування (ОДА від 5 до 8 %), але тривала до 122 години і сягала 31 %.

За оцінкою швидкості росту нововиділених культур на середовищах ОхМ Broth та MRS Broth+Ох, а також за їхньою оксалатдеградувальною активністю нами відібрано 4 штами для подальшого дослідження з перспективою включення до пробіотичних препаратів із оксалатдеградувальною активністю.

**Ханик Ю. О., Різун Г. М., Звір Г. І., Мороз О. М., Гнатуш С. О.**

ВИКОРИСТАННЯ ФОТОТРОФНИМИ ЗЕЛЕНИМИ СІРКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ  
*CHLOROBIVM LIMICOLA* ІМВ К-8 ЙОНІВ НІТРИТУ ЯК ДОНОРА ЕЛЕКТРОНІВ АНОКСИГЕННОГО  
ФОТОСИНТЕЗУ ЗА ВПЛИВУ НЕОРГАНІЧНИХ ЗАБРУДНЮВАЧІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

yurahanuk43@gmail.com

**Hanyk Yu. O., Rizun H. M., Zvir G. I., Moroz O. M., Hnatush S. O.** THE USAGE OF NITRITE IONS AS ELECTRON DONOR OF ANOXYGENIC PHOTOSYNTHESIS BY PHOTOTROPHIC GREEN SULFUR BACTERIA *CHLOROBIVM LIMICOLA* IMV K-8 UNDER THE INFLUENCE OF INORGANIC POLLUTANTS. It was established that  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  and  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  at concentrations in 4 times higher than maximum permissible concentrations had the most negative influence on biomass accumulation by *Chlorobium limicola* IMV K-8 in the medium with  $\text{NaNO}_2$  as electron donor. Nitrates production by bacteria decreased with increasing the concentrations of inorganic pollutants in the cultivation medium.

Фототрофні бактерії – це різноманітна за морфологією група грамнегативних прокариот, широко розповсюджених у прісних водоймах, морських осадах, стічних водах (Dahl, 2017). Вони беруть участь у

глобальному біогеохімічному циклі нітрогену, сульфуру та карбону (Middelburg et al., 2000). Фототрофні сіркобактерії відіграють важливу роль у відновленні рівноваги хімічних елементів у водоймах за рахунок використання відновлених сполук сульфуру та нітрогену (гідроген сульфід, тіосульфатів, нітритів тощо) як донорів електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу (Кондратьєва, 1989; Steudel, 2000).

Відомо, що забруднювачі неорганічної природи змінюють перебіг біологічних процесів очищення довкілля (Тарабас та ін., 2017), проте їхній вплив на фізіологічні властивості фотосинтезувальних сіркових бактерій вивчено недостатньо. Тому метою роботи було дослідити використання йонів нітриту як донора електронів аноксигенного фотосинтезу клітинами фототрофних зелених сіркових бактерій, виділених із води оз. Яворівське, за впливу гідро- та дигідрофосфатів, сульфатів і хлоридів.

Бактерії *Chlorobium limicola* ІМВ К-8 культивували у середовищі Ван Ніля (Гудзь та ін., 2014) з  $\text{NaNO}_2$  (4,2 мМ) за анаеробних умов, 25–28 °С та оптимального освітлення (40 лк, довжина хвилі – 700–800 нм). Для вивчення впливу забруднювачів на нагромадження біомаси, використання нітритів і нагромадження нітратів бактерії висівали у пробірки (густина засіву – 0,2 г/л), вирощували у середовищі з  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  або  $\text{NaCl}$  за гранично допустимих концентрацій (ГДК) та концентрацій, які відрізнялися від ГДК у 0,5; 2,0; 3,0; 4,0 рази (контроль – середовище без забруднювачів).

Після 10 діб росту визначали біомасу турбідиметричним методом, вміст  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$  у культуральній рідині спектрофотометричним методом (Granger et al., 1996; Гудзь та ін., 2014).

Неорганічні забруднювачі негативно впливали на нагромадження біомаси бактеріями *C. limicola* ІМВ К-8 у середовищі з  $\text{NaNO}_2$ . Найбільш негативно на нагромадження біомаси бактеріями впливали  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  та  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  за концентрацій, вищих від гранично допустимих у 4 рази. Використання бактеріями нітритів як донора електронів зростало зі збільшенням вмісту неорганічних забруднювачів у середовищі культивування. За впливу калій гідрофосфату за концентрації, що перевищує ГДК у 4 рази, клітини *C. limicola* ІМВ К-8 окиснили  $\text{NO}_2^-$  на 5,0 % більше, ніж у контролі. Інгібувальну дію на нагромадження нітратів у середовищі росту *C. limicola* ІМВ К-8 спричиняли калій гідро- та дигідрофосфат, натрій хлорид і натрій сульфат за концентрацій, що перевищували ГДК у 2–4 рази.

Отже, показано, що неорганічні токсиканти за концентрацій, учетверо вищих, ніж ГДК, пригнічують ріст бактерій *C. limicola* ІМВ К-8 та нагромадження ними нітратів у середовищі з  $\text{NaNO}_2$  як донором електронів.

**Цісарик О., Кушнір І., Сливка І., Мусій Л.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ *IN VITRO* АВТОХТОННИХ ШТАМІВ РОДУ *ENTEROCOCCUS*,  
ВИДІЛЕНИХ ІЗ ТРАДИЦІЙНИХ КАРПАТСЬКИХ ПРОДУКТІВ**

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького  
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна  
slyvka.88@ukr.net

**Tsisaryk O., Kushnir I., Slyvka I., Musii L.** *IN VITRO* STUDIES OF AUTOCHTONIC STRAINS OF *ENTEROCOCCUS* GENUS ISOLATED FROM TRADITIONAL CARPATIAN PRODUCTS. The purpose of the work was to search for new strains of lactic acid bacteria (LAB) from traditional dairy products, which may be good for industrial applications as part of the starter. Investigated four strains of *Enterococcus* genus. It is established that these strains exhibit not very high acid-forming activity, but resistant to high salt concentrations. They are sensitive to antibiotics, have antimicrobial properties and do not exhibit pathogenic properties and may be included in food.

У складі природних біоценозів, таких як мікрофлора традиційних карпатських продуктів, можуть бути бактерії з особливими властивостями – не тільки технологічними, але і пробіотичними. Метою наших досліджень було дослідити *in vitro* властивості чотирьох автохтонних штамів роду *Enterococcus*, виділених із традиційної карпатської бринзи.

За комплексом мікробіологічних та генотипових властивостей (RAPD-PCR, RFLP-PCR, sequence 16S rRNA) ці штами належать до видів *E. faecium* (SB12) та *E. durans* (SB20, SB18, SB6) (Slyvka, Tsisaryk, 2014, 2015). Для молочнокислих бактерій (МКБ), які мають промислове значення, крім технологічних властивостей, важливе місце займають їхня антибіотикорезистентність, антимікробна активність і патогенність. Класичні мікробіологічні дослідження мікроорганізмів включали морфологічну характеристику, оптимальну температуру культивування, здатність продукувати  $\text{CO}_2$  із глюкози, гідроліз аргініну, каталазну активність і спектр зброджування вуглеводів. Технологічні властивості оцінювали за здатністю до утворення молочної кислоти і здатністю рости за наявності 2, 4, 6,5 %  $\text{NaCl}$ . Чутливість до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом. Антимікробну активність визначали лунково-дифузійним методом до *E. coli*, *S. enteritidis*, *E. aerogenes*, *P. mirabilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*.

Патогенні властивості досліджували на білих мишах в умовах віварію.

Встановлено, що бактерії добре росли на середовищі MRS за температур +15-45 °С, є Грам+ коками, не зброджували фруктозу, рафінозу, сорбітол і ксилозу, каталазо-неактивні, не утворювали  $\text{CO}_2$  з глюкози, гідролізували аргінін, росли у середовищі із 6,5 %  $\text{NaCl}$ . За 24 год ферментації знежиреного молока його кислотність зростала до 80-82 °Т, а рН знижувалось до 5,1. Встановлено, що бактерії чутливі до широкого

спектру антимікробних препаратів (макроліди, тетрацикліни, фторхінолони, цефалоспорини, нітрофурані, хлорамфеніколи, глікопептиди, полімікани, рифампіцини), за винятком аміноглікозидів і пеніцилінів. Природна стійкість до аміноглікозидів пояснюється тим, що в анаеробів немає систем перенесення цих антибіотиків крізь плазматичну мембрану клітини (Ботина, 2008). Стійкість до пеніцилінів можна обґрунтувати наявністю в ентерококів спеціальних ферментів, що інактивують дію пеніциліну.

Встановлено, що досліджувані бактерії мають певні антимікробні властивості. Найбільшу антимікробну активність відзначено у *E. durans* (SB18). Усі штами роду *Enterococcus* найбільше інгібували ріст *P. mirabilis* (12,3 мм). Відсутність зон затримки росту спостерігалася для *S. aureus* та *P. aeruginosa*. За результатами вивчення патогенності штамів роду *Enterococcus* встановлено, що мікроорганізми є авірулентними, не токсичними і не токсигенними для піддослідних тварин. За результатами проведених досліджень можна зробити висновок, що штами *E. durans* SB20, SB18, SB6 та *E. faecium* SB12 характеризуються високою чутливістю до антибіотиків усіх груп, мають певні антимікробні властивості та є не патогенними. Такі штами в перспективі можуть бути використані як стартерні культури у складі бактеріальних препаратів, оскільки є біологічно безпечними та наділені важливими технологічними властивостями.

**Чумак А., Федосова Н., Симчич Т., Караман О., Черемшенко Н., Діденко Г.**  
ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ МАКРОФАГІВ У МИШЕЙ  
З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ МОДЕЛЬНИМИ ПУХЛИНАМИ

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. С. Кавецького НАН України*  
*вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна*  
*immunomod@ukr.net*

**Chumak A., Fedosova N., Symchych T., Karaman O., Cheremshenko N., Didenko G.** THE RESEARCH ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MACROPHAGES IN MICE WITH EXPERIMENTAL MODEL TUMORS. By now, to estimate the precise role of the cells conferring cancer resistance in the genesis and progression of tumors remains very important. Much attention is paid to the macrophages – cells of the natural defense system playing main roles in cancer immune response and tissues homeostasis. The thesis provides the research on functional activity of macrophages isolated from diverse bioniches on different stages of experimental tumor progression. Independently of the macrophages' isolation bioniche, changes in their functional activity indicated the gradual polarization from the anticancer type 1 (early stages of tumor growth) towards tumor promoting type 2 macrophages (late stages).

Проблема дослідження ролі клітин імунної системи в пухлинному рості на сьогодні залишається відкритою. Перспективним об'єктом вивчення є клітини моноцитарно-макрофагального ряду. Макрофаги – це велика гетерогенна популяція клітин, що набувають різних властивостей залежно від мікрооточення середовища їхнього функціонування (Movahedi, 2010; Richards, 2013).

Є два шляхи активації макрофагів: класичний, при якому макрофаги поляризуються в клітини M1 типу з протипухлинними властивостями, й альтернативний – утворення клітин M2 типу з пропухлинною дією (Mills, 2000, Sawa-Wejksza, 2018). Механізми активації та поляризації макрофагів відносно добре описано в науковій літературі, проте недостатньо дослідженими лишаються питання їхнього перебігу в динаміці пухлинного процесу залежно від середовища функціонування. Тому метою роботи стала оцінка функціональної активності макрофагів експериментальних тварин у динаміці росту модельної пухлини.

Об'єкт дослідження – макрофаги, виділені з різних біологічних ніш (перитонеальної порожнини, селезінки, пухлинної тканини) мишей-самців лінії Balb/c розплідника віварію ІЕПОР ім. Р. С. Кавецького НАН України. Утримання мишей і робота з ними здійснювались у відповідності до міжнародно прийнятих правил проведення робіт з експериментальними тваринами. Як модельна пухлина використана аденокарцинома Ерліха (АКЕ). Пухлини індукували введенням  $5 \times 10^5$  клітин АКЕ/мишу, в/м, у задню кінцівку. На 7, 14, 21 та 28 доби пухлинного процесу оцінювали показники периферичної крові й функціональний стан макрофагів за цитотоксичною та метаболічною активністю, активністю аргінази, рівнем продукції NO. Як контрольну групу використано інтактних мишей цієї ж лінії, віку і статі. Методи дослідження – біохімічні, гематологічні, імунологічні, експериментально-онкологічні, статистичні.

Показано, що ріст АКЕ викликав суттєві зміни у формулі крові дослідних тварин за рахунок різних популяцій клітин: на 7-му добу після перещеплення пухлини спостерігали збільшення абсолютної кількості лімфоцитів і моноцитів, на термінальних етапах пухлинного росту – їхнє суттєве зниження на тлі підвищення кількості гранулоцитів. Аналіз показників функціональної активності макрофагів свідчив про переважання на ранніх етапах росту пухлини кількості клітин із протипухлинними властивостями (M1), в подальшому спостерігали поступову поляризацію до клітин із фенотипом M2. Динаміка показників не залежала від середовища функціонування макрофагів. Отримані дані відкривають перспективу пошуку підходів до використання феномена пластичності макрофагів з метою підвищення протипухлинної резистентності організму.

**Biliaiev I., Harbuz D.**

EFFECT OF ALUMINIUM FOSETYL ON THE CULTURE  
OF *MACROPHOMINA PHASEOLINA* (TASSI) GOID

V. N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine  
ivanbiliaiev@gmail.com  
dmitriy.garbuz99@gmail.com

*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid is an Ascomycota representative that causes a charcoal rot on the diverse variety of host plants, lots of which are significant crops for Ukraine such as sugar beet (*Beta vulgaris* L.), sunflower (*Helianthus annuus* L.), corn (*Zea mays* L.), etc. *M. phaseolina* affects fibrovascular system of roots and basal internodes of the host causing a progressive wilting, premature death and loss of a yield as a result. The pathogen infects host plant during the first stages of its growth, but symptoms of the disease appear only after a flowering phase that creates complexity in identification and cure of disease. During vegetation, pathogen forms microsclerotia (rest structures) in the stems of hosts, which helps it to overwinter in the soil or crop residues. The longtime symptomless pathogen development and soil type of plant infection (via roots) create complexity for its effective fungicide treatment.

Aluminium Fosetyl (Fosetyl-Al) is a compound of commercial systemic fungicide Aliette® by Bayer that is used to control diseases caused by pseudofungi (*Peronospora*, *Phytophthora*, etc.) This fungicide is capable of going down in the phloem and therefore may affect the fibrovascular pathogens. Fosetyl is a molecule that causes ‘host plant defense induction’ (FRAC Code List, 2020), and Al-ions can be unspecific inhibitors of different pathogens. Therefore the object of our research was to determine if Fosetyl-Al affects *M. phaseolina* cultures (using the food-poisoning method *in vitro*).

To determine the effect of the substance on the pathogen, different concentrations of Fosetyl-Al were added into the nutritional medium. Concentrations were chosen following a principle: recommended concentration, 2× dilution, 5× dilution and control without adding the substance. The effect was determined by measuring of fungus culture radial growth rate and comparing growth indexes of samples with treatment and without treatment. Cultures in the Petri dishes with the CYA nutrient medium were incubated at 26°C. The measurements were carried out on the 2nd, 3rd and 5th day after introducing the inoculum into nutrient media.

After measurements the following results were received:

Concentration	Colony diameter on 2nd day, mm	Colony diameter on 3rd day, mm	Colony diameter on 5th day, mm	Radial growth rate, mm/hour
Control (0 g/l)	43.1	82.8	90	0.99
Recommended (1.2 g/l)	0	0	0	0
×2 dilution(0.6 g/l)	38.5	64.3	90	0.76
×5 dilution (0.24 g/l)	54.6	79.8	90	0.96

As a result, only concentrated solution has a fungicide effect on *M. phaseolina* cultures, whereas dilutions into 2 and 5 times don't show efficiency. It was registered that 5× dilution even has a stimulating effect on *M. phaseolina* on the first day of growth. Because all basipetal preparations become more diluted in the phloem of the host plant, we suppose that Al-ions of Aliette® cannot be effective in charcoal rot controlling. The indirect effect of the preparation through the resistance of the fungicide-treated plant needs to be investigated separately.

The work was supervised by O. Yu. Akulov, associate professor of V. N. Karazin National University of Kharkiv (Department of Mycology and Plant Resistance).

**Buyun L.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Kovalska L.<sup>1</sup>, Góralczyk A.<sup>2</sup>**

IN VITRO SCREENING OF THE ETHANOLIC EXTRACTS DERIVED FROM SOME ORCHIDS  
BELONGING TO THE *COELOGYNE* GENUS FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS* STRAIN USING DISC DIFFUSION METHOD

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

*Enterococcus faecalis* is found in a variety of environments, i.e. soil, water, plants, and animals (Mallon et al., 2002; Daniel et al., 2017). A strong epidemiological link has been reported between *E. faecalis* inhabiting animals and environmental sources (Daniel et al., 2017). Various reports suggest environmental sources including animals and water can serve as important sources for antibiotic-resistant *E. faecalis* strains (Mallon et al., 2002). In humans and mammals, these bacteria are mainly found in the gastrointestinal tract as commensals. However, *E. faecalis* may become an opportunistic pathogen in individuals whose immune systems are compromised (Texeira and Merquior, 2012). Moreover, *E. faecalis* ranks as one of the leading causes of nosocomial infections (Daniel et al., 2017). The rate of development of bacterial resistance has accelerated in the past decade and today multiple antibiotic-resistant bacteria constitute a global problem (Roca et al., 2015; Daniel et al., 2017).



A wide range of phytochemicals has been reported as antibacterial compounds, belonging to different classes, such as alkaloids, terpenoids, polyphenols, tannins, and phenanthrenes. It was emphasized that among them, phenanthrenes are a relatively uncommon class of aromatic metabolites in the plant kingdom, which are mainly found in the *Orchidaceae* and *Juncaceae* (Kovács et al., 2008; Chen et al., 2018; Tóth et al., 2018). Although the antimicrobial activity of many orchid species, including *Coelogyne* species, has been effectively established against a wide spectrum of microorganisms (Kovács et al., 2008; Haque and Ghosh, 2015; Chen et al., 2018), bacterial drug resistance continues to be a worldwide public health issue in the treatment of infectious diseases, thereby stimulating search for new alternatives with fewer side effects (Mambe et al., 2019). The present study was aimed to compare the antibacterial activity of the leaf and pseudobulb extracts derived from eight orchid species against *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212™) strain.

The leaves and pseudobulbs of orchids, i.e. *C. flaccida* Lindl., *C. huettneriana* Rchb.f., *C. speciosa* (Blume) Lindl., *C. fimbriata* Lindl., *C. tomentosa* Lindl., *C. ovalis* Lindl., *C. cristata* Lindl., *C. viscosa* Rchb.f. cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine). Since 1999 the whole collection of tropical and subtropical plants (including orchids) has had the status of a National Heritage Collection of Ukraine and is supported through State funding. Besides, M.M. Gryshko National Botanic Garden collection of tropical orchids was registered at the Administrative Organ of CITES in Ukraine (Ministry of Environment Protection, registration No. 6939/19/1-10 of 23 June 2004). The collected leaves and pseudobulbs were brought into the laboratory for antimicrobial studies. Freshly crushed leaves and pseudobulbs were washed, weighed, and homogenized in 96% ethanol (in ratio 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated for their antimicrobial activity.

The testing of the antibacterial activity of the plant extracts was carried out *in vitro* by the Kirby-Bauer disc diffusion technique (Bauer et al., 1966). The *Enterococcus faecalis* (Andrewes and Horder) Schleifer and Kilpper-Balz (ATCC® 29212™) strain was used in the current study. Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200 µl of standardized inoculum ( $10^8$  CFU/mL) of the bacterium and spread with sterile swabs. Sterile filter paper discs impregnated by extract were applied over each of the culture plates, 15 min after bacteria suspension was placed. A negative control disc impregnated by sterile 96% ethanol was used in each experiment. After culturing bacteria on Mueller-Hinton agar, the disks were placed on the same plates and incubated for 24 hr at 37°C. The assessment of antimicrobial activity was based on the measurement of the diameter of the inhibition zone formed around the disks. The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters and compared with those of the control and standard susceptibility disks. The activity was evidenced by the presence of a zone of inhibition surrounding the well. Zone diameters were determined and averaged. The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) with Statistica software, version 8.0 (StatSoft, Poland) (Zar, 1999). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq 15$  mm, Intermediate (I) = 10–15 mm, and Resistant (R)  $\leq 10$  mm (Okoth et al., 2013).

In this study, tested extracts exhibited variable antibacterial activities with inhibition zone diameter values ranging from 10.5 to 15.5 mm (crude extracts derived from the leaves) and from 12.5 to 17 mm (for pseudobulb extracts). In our study, the marked antibacterial efficacy against *Enterococcus faecalis* strain was observed in the case of ethanolic extracts obtained from leaves of *C. flaccida* (mean diameter of inhibition zones was 15.7 $\pm$ 1.1 mm), *C. viscosa* (14.5 $\pm$ 0.8 mm), *C. huettneriana* (13.8 $\pm$ 1.2 mm), and *C. ovalis* (13.2 $\pm$ 0.9 mm). A statistically significant increase ( $p < 0.05$ ) in inhibition zone diameters of strain growth was 78% (for *C. flaccida*), 65% (for *C. viscosa*), 57% (for *C. huettneriana*), and 50% (for *C. ovalis*). Leaf extracts of *C. cristata*, *C. ovalis*, *C. fimbriata*, *C. speciosa*, and *C. tomentosa* displayed less inhibitory activity against strain tested (mean diameter of inhibition zones was ranging from 8.5 to 12.8 mm).

On the other hand, the ethanolic extracts obtained from pseudobulbs of *C. speciosa* (mean diameter of inhibition zones was 17.6 $\pm$ 1.2 mm), *C. flaccida* (16.4 $\pm$ 0.8 mm), and *C. viscosa* (14.5 $\pm$ 0.9 mm) revealed statistically significant antibacterial activity against *Enterococcus faecalis* strain compared to control sample (96% ethanol). A statistically significant increase ( $p < 0.05$ ) in inhibition zone diameters of strain growth was 100% (for *C. speciosa*), 86% (for *C. flaccida*), and 65% (for *C. viscosa*).

Consequently, the present study, which revealed the antibacterial properties of the plant extracts, is a justification of the use of orchids belonging to the *Coelogyne* genus to treat some of the infectious diseases caused by *Enterococcus faecalis* strains. In conclusion, ethanolic extracts derived from the leaves and pseudobulbs of eight species from the *Coelogyne* genus exhibited marked antibacterial activity against *Enterococcus faecalis* (inhibition zone diameter ranged from 10.5 to 17 mm). The most active extracts can be subjected to isolation of the therapeutic antimicrobials to carry out the further pharmacological evaluation.

This study has provided informative data about the antimicrobial potential of the tested plant extracts. This fact is withstood by the bactericidal effect of the extracts derived from the leaves and pseudobulbs. Nevertheless, there is still room for an in-depth investigation, to make these plants best use in medicine and veterinary and to select them as an alternative to combat bacterial resistance.

*The authors are grateful to the The Visegrad Fund for supporting our study.*

**Fomichov A., Shevchenko T.**

REDISCOVERING CUCURBIT APHID-BORNE YELLOWS VIRUS IN UKRAINE

Taras Shevchenko National University of Kyiv  
ESC “Institute of Biology and Medicine”  
2, Akademik Hlushkov Ave., Kyiv, 03022, Ukraine  
artemfomichev99@gmail.com

Every year Ukrainian agriculture suffers from significant loss due to reduction in yields, caused by various viral diseases. One of the most noticeable areas of focus in our department is monitoring viral diseases that cause severe loss in Ukrainian agriculture. This summer we have collected approximately 30 samples of plants with viral disease symptoms and soils from infected households. In this year’s materials we observed a few samples with severe infection symptoms, such as leaf deformation and yellow mosaic on them, but neither PCR, nor DAS-ELISA showed presence of widespread in Ukraine viruses in these samples. Therefore, we decided to search for viruses that have not been detected in Ukraine for a long moment. We made a search to find different pathogens, which included cucurbit aphid-borne yellows virus, as we have once detected it in plant samples (Rudneva, 2006). For our research we set reverse transcription and PCR using primers for CABYVs capsid protein.

Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV) is a member of genus *Polerovirus* in the family *Luteoviridae* (D’Arcy, Domier, 2005). Since its description in 1992 in France, the virus has been reported to infect cucurbits worldwide, causing yellowing disease that led to up to 50 % loss in cucumber production and up to 10–15 % in melon production (Lecoq, 1999).

The virus has spherical non-enveloped capsid, 25 nm in diameter. Its genome is monopartite ss(+)RNA, approximately 5.7 kb in length, with VPg attached to the 5’-end but without poly(A)-tail or tRNA-like structures on the 3’-end.

CABYV is transmitted from plant to plant by aphids in persistent, circulative, nonpropagative manner (Lecoq, Desbiez, 2012). In the organism of the infected plant CABYV accumulates in phloem, causing severe yellowing of the older leaves and reduction of the marketable production by 10–15 % in melon and up to 50 % in cucumber (Lecoq, 1999).

After detecting CABYV using PCR we sequenced the gene of its capsid protein to build the phylogenetical tree of different strains of CABYV. Building this tree will allow us to find out where the Ukrainian strain originated from.

**Honcharenko V.<sup>1</sup>, Prokopiv A.<sup>1,2</sup>, Nachychko V.<sup>1,2</sup>, Sosnovsky Y.<sup>2</sup>, Tkachenko H.<sup>3</sup>,  
Kurhaluk N.<sup>3</sup>, Góralczyk A.<sup>3</sup>, Osadowski Z.<sup>3</sup>**

SCREENING OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT  
OBTAINED FROM *RHODODENDRON MYRTIFOLIUM* SCHOTT & KOTSCHY LEAVES  
AGAINST CLINICALLY ISOLATED BACTERIAL STRAINS

<sup>1</sup>Department of Botany, Faculty of Biology, Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005. Ukraine  
e-mail: vherbarium@ukr.net

<sup>2</sup>Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv 79014, Ukraine

<sup>3</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland

The genus *Rhododendron* L. (Ericaceae) is one of the most species-rich among angiosperms, comprising over 1000 species spreading across the northern hemisphere and with the center of diversity in southeastern Asia (Irving and Hebda, 1993). A noteworthy European member of the genus is *R. myrtifolium* Schott & Kotschy, an evergreen clump-forming dwarf shrub up to 50 cm in height, occurring in high-mountain habitats of the eastern and southern Carpathian Mountains and northern Balkans, largely within altitudes of 1400-2500 m (Cullen, 1980; Mircea, 2005; Boratyński et al., 2006; Voloschuk and Prokopiv, 2011). Although endangered in countries of its distribution, *R. myrtifolium* has been used in folk medicine for the preparation of herbal teas (Dihoru and Boruz, 2014; Nedelcheva and Draganov, 2014) and presents a major touristic attraction during its mass flowering period in mountains (Rivers, 2017). Its evolutionary closest relatives, *R. ferrugineum* L. and *R. hirsutum* L. (Sosnovsky et al., 2017) have been shown to possess cytotoxic, antibacterial, and antiviral effects of their extracts (Louis et al., 2010; Gescher et al., 2011; Seephonkai et al., 2011; Rezk et al., 2015b), while the biochemical features and bioactive potentials of *R. myrtifolium* remain unexplored.

*Rhododendron* species have been traditionally used in China, Nepal, Russia, and North America against inflammation, pain, skin ailments, common cold, and gastrointestinal disorders and for treating human diseases like asthma and skin diseases. These species are known to be a good source of polyphenolic plant secondary plant metabolites (Shrestha et al., 2017). The plant extracts belonging to the genus *Rhododendron* and isolated compounds demonstrated diverse biological activities including anti-inflammatory, analgesic, anti-microbial, anti-diabetic, insecticidal and cytotoxic activity (Popescu and Kopp, 2013), as well as antibacterial activity (Innocenti et al., 2010; Silici et al., 2010; Popescu and Kopp, 2013; Rezk et al., 2015; Wang et al., 2015; Li et al., 2016; Hakeem Said et al., 2017; Shrestha et al., 2017).

This study aimed to assess possible antibacterial effects of an ethanolic extract derived from *Rhododendron myrtifolium* leaves against *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli*

strain locally isolated from human biological fluids. Thus, the study contributes to on-going investigations on the bioactivity potential of plant species such as the *Rhododendron*. Hence, the effects of *Rhododendron myrtifolium* leaf extract against bacterial strains were monitored *in vitro* by the disk diffusion method.

Leaves of *Rhododendron myrtifolium* were harvested on the side of the road between the Menchul valley and Rogneska valley (Kvasy village, Rakhiv district, Zakarpattia region, Ukraine; N 48°09'28.4", E 24°20'05.6", 1485 m a.s.l.). Plant samples were thoroughly washed to remove all the attached materials and used to prepare the ethanolic extract. Freshly leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:19, w/w) at room temperature. The extract was then filtered and investigated for antimicrobial activity.

Non-repetitive clinical strains isolated from biological materials of infected patients were collected from Koszalin Hospital during March-April, 2019. For the current study, four bacterial strains were used for the study of susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals: 1) Isolate 1 – *Citrobacter freundii* strain was susceptible to all antibiotics used; 2) Isolate 2 – *Enterobacter cloacae* strain was resistant to the amoxicillin, cefuroxime, trimethoprim-sulphamethoxazole, and cefotaxime; 3) Isolate 3 – *Klebsiella pneumoniae* was resistant to piperacillin-tazobactam (100/10 µg), gentamicin (10 µg), tobramycin (10 µg), and ciprofloxacin (5 µg); 4) Isolate 4 – *Escherichia coli*, not β-lactamase (ESBL)-producing strain, was a sensitive strain to antibiotics tested. The purity, as well as the identity of isolate, was confirmed in the laboratory conditions by standard microbiological methods and were interpreted according to the guidelines of the Clinical Laboratory Standards Institute (2014).

Strains tested were plated on TSA medium (Tryptone Soy Agar) and incubated for 24 hr at 25°C. Then the suspension of microorganisms was suspended in sterile PBS and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200 µl of standardized inoculum ( $10^8$  CFU/mL) of the bacterium and spread with sterile swabs. Sterile filter paper discs impregnated by sample were applied over each of the culture plates, 15 min after bacteria suspension was placed. The antimicrobial susceptibility testing was done on Muller-Hinton agar by the disc diffusion method (Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol) (Bauer et al., 1966). A negative control disc impregnated by sterile ethanol was used in each experiment. After culturing bacteria on Mueller-Hinton agar, the disks were placed on the same plates and incubated for 24 hr at 37°C. The assessment of antimicrobial activity was based on the measurement of the diameter of the inhibition zone formed around the disks. All statistical analyses were performed using STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Poland). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S) ≥ 15 mm, Intermediate (I) = 11-14 mm, and Resistant (R) ≤ 10 mm (Okoth et al., 2013).

The results revealed that extract exerts antibacterial activity against *Citrobacter freundii*. However, the *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* were resistant to *R. myrtifolium* leaf extract. Maximum *in vitro* inhibition was scored against *Citrobacter freundii*, followed by *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae*, which presented inhibition zones of ( $12.1 \pm 0.9$ ) mm, ( $9.1 \pm 0.5$ ) mm, ( $7.5 \pm 0.6$ ) mm, and ( $7.2 \pm 0.5$ ) mm, respectively. In the case of the positive controls, 96% ethanol possesses a mild antibacterial effect, which presented inhibition zones of ( $6.5 \pm 0.7$ ) mm. In line with the growing interest in the antibacterial potential of different plants, we examined the antibacterial properties of the ethanolic extract obtained from *R. myrtifolium* against *Rhododendron myrtifolium* leaves against *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* strains. The results from the screening study performed by the disc diffusion method revealed that *R. myrtifolium* possesses a mild antibacterial activity against *C. freundii*.

The results of this study are consistent with other studies that have previously been reported that extracts of *Rhododendron* leaves have antibacterial activity against resistant bacteria strains. Crude extracts of *Rhododendron* leaves were tested for their antibacterial activity using agar diffusion and minimum inhibitory concentration assays and results were presented in the study of Hakeem Said and co-workers (2017).

It can be concluded that *Rhododendron myrtifolium* leaves extract can be as complementary medicine in treating diseases caused by multidrug-resistant strains of *Citrobacter freundii*. However, further investigation is needed to determine the bioavailability of the active compounds and to determine the dose and toxicity both *in vitro* and *in vivo* tests before it can be used as therapeutic agents.

**Honcharenko V.<sup>1</sup>, Nachychko V.<sup>1,2</sup>, Prokopiv A.<sup>1,2</sup>, Tkachenko H.<sup>3</sup>, Kurhaluk N.<sup>3</sup>,  
Góralczyk A.<sup>3</sup>, Osadowski Z.<sup>3</sup>**

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACTS OBTAINED FROM LEAVES  
OF SOME *THYMUS* (LAMIACEAE) REPRESENTATIVES AGAINST *CITROBACTER WERKMANII*

<sup>1</sup>Department of Botany, Faculty of Biology, Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005. Ukraine  
e-mail: vherbarium@ukr.net

<sup>2</sup>Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv 79014, Ukraine

<sup>3</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland

The genus *Citrobacter*, belonging to the family *Enterobacteriaceae*, is a distinct group of aerobic, Gram-negative, non-spore forming, rod-shaped bacteria commonly found in water, soil, food and intestinal tracts of animals

and humans (Lipsky et al., 1980; Zhou et al., 2017, 2018). Some strains of this genus can cause serious opportunistic infections particularly involving the urinary and respiratory tracts (Hodges et al., 1978; Arens and Verbist, 1997). Also, *Citrobacter* spp. cause enteric diseases and may also be associated with extra-intestinal disorders, such as neonatal meningitis and brain abscesses (Doran, 1999; Badger et al., 1999). The species *Citrobacter werkmanii* was named to honor Chester H. Werkman, an American microbiologist, who studied the fermentative production of trimethylene glycol from glycerol and proposed the genus *Citrobacter* (Werkman and Gillen, 1932; Zhou et al., 2017, 2018).

Our previous studies lay the basis for future research, to validate the possible use of *Thymus* species as a candidate in the treatment of bacterial infections and a potential target for the activity-guided isolation of active constituents to explore the mechanism of action and relevant uses in the medicine and veterinary. Recent studies have shown that *Thymus* species have strong antimicrobial and antioxidant activities (Jia et al., 2010). The thyme essential oil has also remarkable antibacterial effects, which are associated with the presence of their phenolic components, carvacrol, and thymol. In a study by Yamazaki and co-workers (2004), carvacrol had the most powerful effect against *Listeria monocytogenes*, followed by thymol, eugenol, cinnamaldehyde, and isoeugenol (Yamazaki et al., 2004). In comparative studies including the oregano and thyme essential oils, the two oils demonstrated remarkable antibacterial activity.

These data have prompted us to verify the antibacterial effects of four species and one interspecific hybrid of *Thymus* genus sampled in the western part of Ukraine against *Citrobacter werkmanii*. Therefore, this study aimed to evaluate the antimicrobial effects of five ethanolic extracts obtained from leaves of some *Thymus* representatives (*Thymus serpyllum* L. emend. Mill., *T. pannonicus* All., *T. x porcii* Borbás, *T. pulegioides* L., *T. alpestris* Tausch ex A. Kern.) against *Citrobacter werkmanii* strain locally isolated.

Leaves of *Thymus serpyllum* L. emend. Mill. were collected among the grass on sandy soil in the edge of a pine forest (Baymaky village, Bilohirya district, Khmelnytsky region, Ukraine; N 50°03'58,9'', E 26°13'37,5'', 257 m a.s.l.). Leaves of *T. pannonicus* All. were harvested among grass in the roadside between the two cultivated fields (Syvky village, Bilohirya district, Khmelnytsky region, Ukraine; N 50°02'09,6'', E 26°13'19,2'', 283 m a.s.l.). Leaves of *T. pulegioides* L. were collected among grass nearby land parcels (Syvky village, Bilohirya district, Khmelnytsky region, Ukraine; N 50°02'02,8'', E 26°14'13,9'', 306 m a.s.l.). Leaves of *Th. x porcii* Borbás (a hybrid between *T. pannonicus* and *T. pulegioides*) were sampled in the grass stand, on the side of the footpath of the race track (Medovoi Pechery Str., Lviv, Ukraine; N 49°49'15.1'', E 24°05'12.5'', 348 m a.s.l.). Leaves of *Th. alpestris* Tausch ex A. Kern. were harvested on the side of the road below the stream, in mountain valley Shumneska (Kvasy village, Rakhiv district, Zakarpattia region, Ukraine; N 48°09'32.3'', E 24°21'26.4'', 1259 m a.s.l.). Identification of these five taxa was made according to Nachychko (2014, 2015) and Nachychko and Honcharenko (2016). The voucher herbarium specimens of plants used in this study were deposited at the Herbarium of M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine (KW). Plant samples were thoroughly washed to remove all the attached material and used to prepare ethanolic extracts. Freshly leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 96% ethanol (in ratio 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated for their antimicrobial activity.

Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion technique (Bauer et al., 1966). Non-repetitive clinical *Citrobacter werkmanii* strain was obtained from the Department of Bacteriology, Regional Hospital in Koszalin (West-Pomeranian Voivodeship, Poland) during November–December, 2019. The purity, as well as the identity of isolate, was confirmed in the laboratory conditions by standard microbiological methods and were interpreted according to the guidelines of the Clinical Laboratory Standards Institute (2014). The strain was grown in a test tube containing 45 mL of sterile nutrient broth (Oxoid™ Ltd.) at 37°C for 24 hours. The purity of the inoculum was confirmed by plating on appropriate selective media and microscopic examination of the Gram-stained smear.

The culture was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extracts were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37°C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of various ethanolic extracts obtained from leaves of *Thymus* representatives. The plates were observed and photographs were taken. For each extract, eight replicate trials were conducted. Zone diameters were determined and averaged. Statistical analysis of the data obtained was performed by employing the mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.) (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft, Poland). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq$  15 mm, Intermediate (I) = 11–14 mm, and Resistant (R)  $\leq$  10 mm (Okoth et al., 2013).

The present study has shown that ethanolic extracts obtained from leaves of *Thymus* species inhibited mild activity against *C. werkmanii*. The mean diameter of inhibition zone for *T. serpyllum* was (14.2 $\pm$ 1.3) mm, for *T. pannonicus* – (11.5 $\pm$ 1.1) mm, for *T. x porcii* – (14.9 $\pm$ 1.3) mm, for *T. pulegioides* – (13.5 $\pm$ 1.2) mm, and for *T. alpestris* – (15.3 $\pm$ 1.0) mm. The highest antimicrobial effect was recorded for *T. alpestris* and *T. x porcii*. It should be noted that the most antimicrobially effective plant against *C. werkmanii* was *T. alpestris* (mean diameter of inhibition zone was 15.3 $\pm$ 1.0 mm).

The biological activities of *Thymus* plants and essential oils depend on their chemical composition, which is determined by the genotype and influenced by environmental conditions (Jia et al., 2010). The main constituents of *T. vulgaris* leave essential oil are 2 phenolic compounds, thymol (2-isopropyl-5-methylphenol) and its conformational isomer, carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol). Further components in the essential oil are thymol methyl ether, cineol, cymene,  $\alpha$ -pinene, and borneol (Pina-Vaz et al., 2004). Nowadays, thymol and thyme present a wide range of functional

possibilities in the pharmacy, food, and cosmetic industry due to several studies that have evaluated the potential therapeutic uses of this compound for the treatment of disorders affecting the respiratory, nervous, and cardiovascular systems. Moreover, this compound also exhibits antimicrobial, antioxidant, anti-carcinogenesis, anti-inflammatory, and antispasmodic activities, as well as a potential as a growth enhancer and immunomodulator (Salehi et al., 2018).

The present study lays the basis for future research, to validate the possible use of *Thymus* species as a candidate in the treatment of bacterial infections. However, further investigation is needed to determine the bioavailability of the active compounds and to determine the dose and toxicity of these extracts.

**Kanavod H., Datsenka A., Belaya L., Klimovich V., Truchan M., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF THREE COMMERCIAL ESSENTIAL OILS DERIVED FROM PLANTS BELONGING TO FAMILY PINACEAE AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAIN

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

The pine family is one of the most ecologically and economically important groups of living plants. Many of the species that are highly valuable for their timber include firs (*Abies*), cedars (*Cedrus*), larches (*Larix*), spruces (*Picea*), pines (*Pinus*), Douglas firs (*Pseudotsuga*), and hemlocks (*Tsuga*) (Lin et al., 2010). The *Pinaceae* are exclusively distributed in the northern hemisphere, except for one species, *Pinus merkusii* Jungh. & de Vriese, whose habitat crosses the equator in Sumatra (Thieret, 1993). Twelve genera (i.e., *Abies*, *Cathaya*, *Cedrus*, *Hesperopeuce*, *Keteleeria*, *Larix*, *Nothotsuga*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudolarix*, *Pseudotsuga*, and *Tsuga*) have been recognized in the family since the pioneering work of Van Tieghem published in 1891 (Lin et al., 2010).

Up to 2008, 277 compounds were isolated from 19 plants of *Abies* species. The chemical constituents are mostly terpenoids, flavonoids, and lignans, together with minor constituents of phenols, steroids, and others. The crude extracts and metabolites have been found to possess various bioactivities including insect juvenile hormone, antitumor, antimicrobial, anti-ulcerogenic, anti-inflammatory, antihypertensive, antitussive, and CNS (central nervous system) activities (Yang et al., 2008).

Essential oils (EO) that are lipophilic liquids, extracted from diverse plants containing different natural, biologically active components have antimicrobial and antioxidant properties (Khorshidian et al., 2018). Essential oils from different plant species contain more than 200 constituents which are comprised of volatile and non-volatile components. The application of essential oils as antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory and anti-viral agents is due to their effective and efficient properties, inter alia (Aziz et al., 2018).

Due to the hydrophobicity of essential oils' components, they easily pass through the bacterial cell membrane interfering with molecular transport mechanisms leading to cell inactivation (Burt, 2004; Chouhan et al., 2017; Khorshidian et al., 2018). This eventually results in the death of a bacterial cell due to leakage of critical molecules and ions from the bacterial cell to a great extent. Some compounds modulate drug resistance by targeting efflux mechanisms in several species of Gram-negative bacteria (Chouhan et al., 2017).

The antibacterial properties of three commercial essential oils derived from plants belonging to family *Pinaceae* and subfamily *Abietoideae* (cedar oil, fir oils derived from Silver fir *Abies alba* and Siberian fir *Abies sibirica*, respectively) against *Staphylococcus aureus* strain were studied in the present research. To this intent, the antimicrobial susceptibility test was used (the Kirby-Bauer disk diffusion test for measuring zone diameters of bacterial growth inhibition).

Essential oils were provided by Polish essential oil manufacturers (Etja, Elbląg, Poland). Overall, essential oils from 3 plant species (cedar oil, fir oils derived from Silver fir *Abies alba* and Siberian fir *Abies sibirica*, respectively). The investigated samples did not contain additives or solvents and were confirmed to be natural by the manufacturers. The samples were stored in resalable vials at 5 °C in the dark but were allowed to adjust to room temperature before investigation. Geographical origins were excluded as information was mostly not available.

For this study, the *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 25923™) (mecA negative) strain was used. The cultivation medium was Trypticase soy agar (Oxoid®, UK), supplemented with 10% defibrinated sheep blood. Cultures were grown aerobically for 24 h at 37°C. The cultures were later diluted with a sterile solution of 0.9% normal saline to approximate the density of 0.5 McFarland standard. The McFarland standard was prepared by inoculating colonies of the bacterial test strain in sterile saline and adjusting the cell density to the specified concentration.

Strain tested was plated on TSA medium (Tryptone Soy Agar) and incubated for 24 hr at 25°C. Then the suspension of microorganisms was suspended in sterile PBS and the turbidity adjusted equivalent to that of a 0.5 McFarland standard. Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200 µl of standardized inoculum (10<sup>8</sup> CFU/mL) of the bacterium and spread with sterile swabs. Sterile filter paper discs impregnated by sample were applied over each of the culture plates, 15 min after bacteria suspension was placed. The antimicrobial susceptibility testing was done on Muller-Hinton agar by the disc diffusion method (Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol) (Bauer et al., 1966). A negative control disc impregnated by sterile ethanol was used in each experiment. After culturing bacteria on Mueller-Hinton agar, the disks were placed on the same plates and incubated for 24 h at 37°C. The assessment of antimicrobial activity was based on the measurement of the diameter of the inhibition zone formed around the disks.

The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters and compared with those of the control and standard susceptibility disks. The activity was evidenced by the presence of a zone of inhibition surrounding the well. Each test was repeated six times. The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq 15$  mm, Intermediate (I) = 11-14 mm, and Resistant (R)  $\leq 10$  mm (Okoth et al., 2013).

Our study demonstrated that the fir oil derived from Silver fir *Abies alba* showed considerably more activity than the cedar oil and fir oil derived from Siberian fir *Abies sibirica*. Maximum antibacterial activity was shown by essential oil of silver fir oil with the inhibition zone size ( $27.0 \pm 1.8$ ) mm, compared to the cedar oil with the inhibition zone size ( $16.9 \pm 1.5$ ) mm, while Siberian fir essential oil showed less activity with ( $16.5 \pm 0.9$ ) mm of clear inhibition zone against *S. aureus* strain.

These findings are in line with the results from previous works and enhance the often requested need for chemical characterizations of antimicrobial essential oils to identify the active compounds and their interdependencies. Antimicrobial properties of essential oils against a wide range of microorganisms have been reported in various studies. Due to the hydrophobicity of essential oils' components, they easily pass through the bacterial cell membrane interfering with molecular transport mechanisms leading to cell inactivation (Burt, 2004; Khorshidian et al., 2018). Multiple studies have been dedicated to investigating the chemical compositions and antibacterial and antifungal activities of essential oils extracted from *Abies* plants (Lee and Hong, 2009; Satou et al., 2011). Various bioactive compounds such as lignans and triterpenoids have been isolated from several *Abies* species (Roshchin et al., 1998; Kim et al., 1999). Recently, the chemical composition of the essential oil prepared from the needles of *A. koreana* and its antibacterial activity against nine bacterial strains were reported (Jeong et al., 2007).

In summary, this study provides insight into the *in vitro* antibacterial activity of a wide variety of essential oils derived from many different plant genera against *Staphylococcus aureus* strain. The data contributes to the ongoing scientific investigation regarding the application of essential oils as natural antibacterial agents. After benchmarking essential oils from plants belonging to subfamily *Abietoideae*, Silver fir essential oil is identified as a promising candidate concerning possible applicability in the prevention of bacterial growth.

**Kharchenko I.<sup>1</sup>, Maryniuk M.<sup>1</sup>, Opryshko M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>,  
Buyun L.<sup>1</sup>, Góralczyk A.<sup>2</sup>**

ANTI-ENTEROCOCCUS FAECALIS EFFICACY OF ETHANOLIC EXTRACTS  
DERIVED FROM LEAVES OF CAMELLIA JAPONICA CULTIVARS (*THEACEA* D. DON)

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

*Camellia* genus belongs to the *Theaceae* (D. Don) family, found in southern and eastern Asia, from the Himalayas east to Japan and Indonesia. Green tea (*Camellia* L.) has received much attention as a beverage worldwide during the last few decades due to its various beneficial effects on human health, including different types of cancer, heart disease, and liver disease, etc. (Chacko et al., 2010; Bashir et al., 2014). Studies reveal that green tea possesses diverse pharmacological properties to lower the incidence of metabolic syndromes, such as obesity, type II diabetes, and cardiovascular risk factors (Chacko et al., 2010). Long-term consumption of tea catechins could be beneficial against high-fat diet-induced obesity and type II diabetes and could reduce the risk of coronary disease (Chacko et al., 2010). Green tea was also reported as useful against HIV strains (Fassina et al., 2002). An aqueous extract of *Camellia sinensis* found to be effective against Gram-positive, Gram-negative, and fungi (Khan et al., 2019). The most important finding of this study is its aqueous extract inhibitory effect against drug-resistant microorganisms, e.g. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans* (Khan et al., 2019).

The present study was aimed to determine the antibacterial activity of extracts derived from leaves of six *Camellia japonica* L. cultivars, i.e. 'Kramer's Supreme', 'C.M. Wilson', 'La Pace', 'Mrs. Lyman Clarke', 'Benikarako', 'Fanny Bolis' against *Enterococcus faecalis* (ATCC® 51299™) strain.

*Enterococcus faecalis* is a Gram-positive bacterium, a member of the lactic acid bacteria group and is also one of the major causative agents of nosocomial infections (Riboulet et al., 2007). A strong epidemiological link has been reported between *E. faecalis* inhabiting animals and environmental sources (Holmberg and Rasmussen, 2016; Daniel et al., 2017).

The leaves of *Camellia japonica* plants cultivated under glasshouse conditions were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine). The sampled leaves were brought into the laboratory for antimicrobial studies. Freshly crushed leaves were washed, weighed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:19) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated for their antimicrobial activity.

The testing of the antibacterial activity of the plant extracts was carried out *in vitro* by the Kirby-Bauer disc diffusion technique (Bauer et al., 1966). The *Enterococcus faecalis* (Andrewes and Horder) Schleifer and Kilpper-Balz (ATCC® 51299™) strain was used in the current study. Strain with genotype vanB ant(6)I aac(6') aph(2'') is resistant to vancomycin, as well as sensitive to teicoplanin. Muller-Hinton agar plates were inoculated with 200  $\mu$ l of standardized inoculum ( $10^8$  CFU/mL) of the bacterium and spread with sterile swabs. Sterile filter paper discs

impregnated by extract were applied over each of the culture plates, 15 min after bacteria suspension was placed. A negative control disc impregnated by sterile 96% ethanol was used in each experiment. After culturing bacteria on Mueller-Hinton agar, the disks were placed on the same plates and incubated for 24 hr at 37°C. The assessment of antimicrobial activity was based on the measurement of the diameter of the inhibition zone formed around the disks. The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters and compared with those of the control and standard susceptibility disks. The activity was evidenced by the presence of a zone of inhibition surrounding the well. Zone diameters were determined and averaged. The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) with Statistica software, version 8.0 (StatSoft, Poland) (Zar, 1999). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq 15$  mm, Intermediate (I) = 10–15 mm, and Resistant (R)  $\leq 10$  mm (Okoth et al., 2013).

The crude extracts were analyzed for their antibacterial effects by the determination of their inhibitory zones against *E. faecalis* strain. Among the six plant extracts, *C. japonica* 'Fanny Bolis' exhibited the highest inhibitory zones against the tested strain (the mean of the zone of inhibitions was  $14.7 \pm 1.1$  mm). The *C. japonica* 'Benikarako', 'Kramer's Supreme', 'Mrs. Lyman Clarke', 'Fanny Bolis' exhibited less growth inhibition, i.e.  $13.8 \pm 1.2$ ,  $12.6 \pm 1.0$ , and  $12.4 \pm 0.9$  mm against *E. cloacae* strain, respectively. The antibacterial effect of *C. japonica* 'C.M. Wilson' ( $10.2 \pm 0.8$  mm) and 'La Pace' ( $9.5 \pm 0.9$  mm) was almost comparable to the effects of positive control ( $8.8 \pm 0.9$  mm). The least activity is attributed to *C. japonica* 'La Pace' extract.

Based on our current investigations it can be concluded that *Camellia japonica* and its cultivars possess a mild antibacterial efficacy. It may also be concluded that the antimicrobial potential of various samples of these plants might be due to a wide variety of compounds present in these plants. The findings reported herein give scientific credence to the traditional uses of these plants and suggest that extracts derived from the leaves of *Camellia japonica* and its cultivars merit further biochemical and chemical study as natural antibiotics to identify the secondary metabolites.

*The authors are grateful to The Visegrad Fund for supporting our study.*

**Komplikevych S., Bulka I., Kashuba L., Maslovska O., Peretyatko T., Moroz O., Hnatush S.**

ABILITY OF ANTARCTIC MICROORGANISMS TO SYNTHESIS  
OF SUBSTANCES WITH ANTIBIOTIC ACTIVITY

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
solomija2008@gmail.com*

The physicochemical environmental factors of Antarctica, in particular  $\gamma$ -radiation, UV radiation, toxic metals, low temperatures, substrate instability, water availability and osmotic stress, all cause significant adaptive changes in the metabolism of microorganisms (Núñez-Montero, Barrientos, 2018). Most natural environments contain a wide variety of species of microorganisms. Bacteria compete with other species for space and resources. There are variety of active mechanisms by which bacteria can damage or kill other microorganisms, which were revealed in laboratory experiments with pure and mixed cultures. The main areas of research and development of technologies based on Antarctic psychrophilic microorganisms include work with psychrophilic enzymes, other biomolecules, including with antibiotic activity, for medical, pharmaceutical or other food industry uses (Yarzabal, 2016). Microorganisms, isolated from Antarctic samples are promising in the biotechnology industry (Asencio, 2014; Vanishree, 2014; Svahn, 2015). The aim of the study was to investigate the antibacterial and antifungal activity of individual strains of microorganisms, isolated from samples, obtained during the Ukrainian Antarctic expedition.

Antibacterial and antifungal activity of strains, isolated from Antarctic samples, was determined. The bacteria *Psychrobacter* sp. were characterized by the highest antibacterial activity. This strain caused growth retardation of *B. cereus*, *S. marcescens*, *P. vulgaris* and *S. aureus*. During the growth of *Psychrobacter* sp. on the media with test-cultures *B. cereus*, *S. marcescens*, *P. vulgaris* and *S. aureus*, it produced a yellow pigment that diffused into the medium. Bacteria *Pseudomonas* sp. and *Arthrobacter* sp. were characterized by lower antibacterial activity. *Arthrobacter* sp. exhibited antagonistic properties against *B. cereus*, *P. fluorescens* and *S. marcescens*. Bacteria *Pseudomonas* sp. had antagonistic properties against *B. cereus* and *S. marcescens*. The investigated strains of microorganisms did not show antagonistic action against *Candida pseudotropicalis*, *Sporopachydermia lactativora*, *Cryptococcus laurentii*.

**Komplikevych S., Bulka I., Kashuba L., Maslovska O., Peretyatko T., Moroz O., Hnatush S.**

IDENTIFICATION OF PSYCHROPHILIC MICROORGANISMS,  
ISOLATED FROM ANTARCTIC SAMPLES

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
solomija2008@gmail.com*

Antarctic biotopes are characterized by extreme conditions. First of all, the living conditions are influenced by osmotic and hydrostatic pressure, solar and cosmic radiation, availability of nutrients. Microorganisms are able to adapt and survive under these conditions (Gupta, 2020). The properties that ensure the survival of these organisms are often unique, and mainly include synthesis of secondary metabolites, proteins of cold shock, antifreeze-nucleating proteins, exopolysaccharides, systems of counteraction to osmotic and oxidative stress, biofilm formation, conjugation, spore

formation, motility, etc. (Núñez-Montero, 2018; Silva, 2018). The isolation and investigation of such microorganisms is interesting from a technological point of view. The aim of the study was to investigate the morphological, cultural, physiological and biochemical properties of three strains isolated from samples obtained during the Ukrainian Antarctic Expedition and identify them.

Morphological properties (using an Axio Lab.A1 Carl Zeiss binocular microscope and Olympus IX73 inverted microscope with DP-74 digital camera, and transmission electron microscopy), the ability to form spores (using the Peshkov-Trujillo method), and catalase, oxidase, amylase, lipolytic, protease activity, ability to nitrogen fixation was investigated. The ability of microorganisms to metabolize organic carbon sources was determined during growth on Giss medium with arabinose, glucose, dulcitol, inositol, xylose, lactose, maltose, mannitol, mannose, rhamnose, sucrose, sorbitol. The determination of the physiological properties of the isolated strains was performed using the Remel RapID™ ANA II system.

The cells of the 5A\_1N\_20 and 89\_1T strains are single, rod-shaped, non-motile, Gram-negative. Cells of strain 10A\_3T\_20 look like short irregularly shaped sticks, which in old culture break up into small cocci, Gram-positive. All three strains of microorganisms do not form spores. Colonies of 5A\_1N\_20 strain on agar medium are smooth, shiny, beige; 89\_1T strain – smooth, shiny, milky in colour, with a heterogeneous texture; 10A\_3T\_20 strain – smooth, shiny, milky in colour. All three strains of microorganisms are catalase-positive, bacteria of strain 10A\_3T\_20 are oxidase-negative. All strains are aerobes. 5A\_1N\_20 and 10A\_3T\_20 strains grow at temperatures 8...28 °C. The optimum temperature for growth of these strains is 16... 20 °C. The 89\_1T strain grow at temperatures 2...30 °C. The optimum temperature for growth is 6...12 °C. The optimum pH for all strains is 6.8–7.3. Strains 5A\_1N\_20 and 89\_1T do not reduce nitrates, do not hydrolyse starch and esculin. Strains 89\_1T and 10A\_3T\_20 do not hydrolyse casein. Cells of strain 10A\_3T\_20 reduce nitrates to nitrites, poorly hydrolyse the starch. None of investigated strains form acid and gas during the growth on carbohydrates and alcohols. Glucose, mannitol, sorbitol, lactose, and maltose are used as carbon sources by all investigated strains. 5A\_1N\_20 bacteria also are capable of using arabinose, sucrose, xylose, mannose, rhamnose, dulcitol, inositol; and 89\_1T also use mannose and rhamnose as the carbon sources. All strains have lipase activity (hydrolyse twin-20). Bacteria of 5A\_1N\_20 and 89\_1T strains are able to gelatine liquefaction, form ammonia during the growth on the MPA medium, do not produce hydrogen sulphide. Cells of strain 10A\_3T\_20 produce hydrogen sulfide during the growth in meat-peptone broth. All investigated strains are able to fix molecular nitrogen. All investigated strains do not form indole from tryptophan. 5A\_1N\_20 strain produce a green fluorescent pigment that diffuses into the medium on the citrimide agar. Cells of strain 10A\_3T\_20 have urease, α-glucosidase, β-glucosidase, α-galactosidase, glycin aminopeptidase, proline aminopeptidase, leucin glycin aminopeptidase, phosphatase activities. According to the morphological, cultural, physiological and biochemical properties, strain 5A\_1N\_20, probably, belongs to *Pseudomonas* genus, strain 89\_1T – to *Psychrobacter* genus, 10A\_3T\_20 strain – to *Arthrobacter* genus.

**Komplikevych S., Bulka I., Kashuba L., Maslovska O., Peretyatko T., Moroz O., Hnatush S.**

**METAL RESISTANT STRAINS OF MICROORGANISMS FROM DIFFERENT ANTARCTIC SUBSTRATES – MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
solomija2008@gmail.com*

The microbiota of the Antarctic ecosystems is poorly understood. Antarctic bacteria are interesting to investigation, because of the need to adapt to extreme conditions of existence, they have developed atypical survival strategies (Núñez-Montero, Barrrientos, 2018). The study of microorganisms adapted to low-temperature living is interesting from a biotechnological point of view because they are characterized by unique properties that favour them (such as halotolerance, metal tolerance and antibiotic resistance) (Tomova et al., 2014). Among the microorganisms already isolated from Antarctic continent biotopes, there are known producers of antimicrobial compounds (Li et al., 2013), antiproliferative molecules (Mojib et al., 2011) and various biopolymer-degrading enzymes (Tomova et al., 2014).

The aim of our work was to investigate the cultural, morphological, physiological and biochemical properties of metal-resistant strains of microorganisms from samples obtained during the Ukrainian Antarctic expedition. To obtain pure cultures, suspension and individual colonies were multiple sown into TSA and NA media. Strains resistant to  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.002–5.0 g/L),  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (0.00002–0.1 g/L),  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (0.0001–0.5 g/L) were determined. Morphological properties (using an Axio Lab.A1 Carl Zeiss binocular microscope and Olympus IX73 inverted microscope with DP-74 digital camera, and transmission electron microscopy), the ability to form spores (using the Peshkov-Trujillo method), and catalase, oxidase, amylase, lipolytic, protease activity, ability to nitrogen fixation were investigated. The ability of microorganisms to metabolize organic carbon sources was determined during growth on Giss medium with arabinose, glucose, dulcitol, inositol, xylose, lactose, maltose, mannitol, mannose, rhamnose, sucrose, sorbitol. The determination of the physiological properties of the isolated strains was performed using the Remel RapID™ ANA II system.

From the samples of mosses, soily mosses, *Deschampsia antarctica*, lichens, fungi, obtained during the Ukrainian Antarctic expedition, 64 strains of psychrophilic microorganisms were isolated (23 of which were resistant to 5.0 g/L Cu(II), 0.1 g/L Pb(II), 0.5 g/L Cr(VI). The morphological, physiological and biochemical properties of nine resistant to influence of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and Cr (VI) strains of microorganisms (17A\_1N\_2, 9.9A\_1T\_2, 11\_1T, 8\_1T,



14\_2N, 14A\_4T\_20, 9.9A\_1T\_20, 5A\_1N\_20, 10A\_3T\_20) were investigated. All investigated strains are aerobes, Gram-negative (except 14A\_4T\_20 i 10A\_3T\_20), not able to form spores rods (17A\_1N\_2, 11\_1T), short rods (8\_1T, 14\_2N, 9.9A\_1T\_20), diplococci (5A\_1N\_20), streptococci (9.9A\_1T\_2, 14A\_4T\_20) or streptobacteria (10A\_3T\_20) capable to molecular nitrogen fixation (except 14A\_4T\_20). Most strains are characterized by protease and lipolytic activities. Strains 9.9A\_1T\_20, 5A\_1N\_20 peptonize milk casein. Strains 8\_1T, 14\_2N, 5A\_1N\_20 metabolize all investigated carbon sources.

**Komplikevych S., Maslovska O., Hnatush S.**

TRANSFORMATION OF COBALT CHLORIDE BY BACTERIA  
*RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII* IMV B-7620

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
solomija2008@gmail.com*

Due to the plasticity of the metabolic pathways, resistance to certain toxic compounds, which are released into the environment owing to the anthropogenic activity, microorganisms can be perspective for the development of technologies of environmental bioremediation from pollutants. Heavy metals are prevalent among soil and groundwater pollutants. This is due to the inability of heavy metal compounds being decomposed like organic substances. Transformation of heavy metal compounds by microorganisms involves the conversion of metals into soluble forms, with an increasing of their bioavailability and potential toxicity, or immobilization with a decreasing in bioavailability (Tashyrev, 1995).

A black precipitate was formed during the growth of the bacteria *R. yavorovii* IMV B-7620 in the medium with cobalt chloride. This indicates the probable ability of these bacteria to transform cobalt chloride. Therefore, the aim of our work was to investigate the change in the concentration of extracellular  $\text{Co}^{2+}$  ions during the cultivation of bacteria *R. yavorovii* IMV B-7620 in ATCC №1449 medium with 1, 5, 10 or 15 mM of cobalt chloride. The concentration of  $\text{Co}^{2+}$  ions was determined spectrophotometrically with an optimized method described (Marczenko, Balcerzak, 2000), in the base of which is the formation of cobalt thiocyanate complex that is extracted with ethanol, acetone and other water-mixed organic solvents.

During the cultivation of *R. yavorovii* IMV B-7620, the concentration of  $\text{Co}^{2+}$  ions in the culture fluid varied. The intensity of change of the concentration of cobalt ions in the culture fluid during bacterial cultivation depended on the initial concentration of the salt which was added. The lower cobalt chloride concentration was initially added, the greater was the difference in percentage between the initially added and the minimum concentration of these ions in the bacterial culture fluid. At an initial concentration of 1 mM of cobalt chloride,  $\text{Co}^{2+}$  ions in the culture fluid of *R. yavorovii* IMV B-7620 were not detected at the 7-th day of bacterial growth and after subsequent cultivation. At higher initial concentrations of metal salts, the reduction of  $\text{Co}^{2+}$  ions occurred up to the 10-th (for 5 and 10 mM of cobalt chloride) and the 14-th (for 15 mM of cobalt chloride) days of *R. yavorovii* IMV B-7620 growth.

Thus, the growth of *R. yavorovii* IMV B-7620 bacteria in a cobalt chloride medium results in a decreasing of the concentration of  $\text{Co}^{2+}$  ions, which is accompanied by the precipitation of cobalt ions and confirms the ability of these bacteria to transform of cobalt (II) compounds.

**Kopteva T., Melnykova O., Babenko L., Lazarenko L., Spivak M.**

VAGINAL ADMINISTRATION OF *LACTOBACILLUS CASEI* IMV B-7280  
CHANGE THE GUT MICROBIOTA OF *STAPHYLOCOCCUS* INFECTED MICE

*D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine  
154, Akad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine  
e-mail: tkopteva15@gmail.com*

Combined therapy of patients with infectious and inflammatory urogenital tract diseases includes both systemic use of antibiotics and stimulation of nonspecific resistance of the organism using immunomodulatory drugs of different nature (Koumans, 2017). In this regard, there is considerable interest for the use of probiotic bacteria in cases of urogenital tract infections to restore and preserve balance of urogenital and gut microbiota and as a highly efficient natural immunomodulatory drugs. Some researchers indicate that vaginal administration of probiotics can influence gut microbiome composition (Kovachev, 2017). Previously we have shown that *Lactobacillus casei* IMV B-7280 have antagonistic activity against opportunistic microorganisms *in vitro* (Lazarenko, 2016). So, the aim of this work was to determine the ability of *L. casei* IMV B-7280 probiotic strain to restore gut microbiota on the model of experimental staphylococcosis.

*L. casei* IMV B-7280 strain, lyophilized in Cuddon Freeze Dryer FD1500 (New Zealand), was used in the study. Before each experiment the viability of probiotic culture was tested by monitoring its growth on Man-Rogosa-Sharpe agar medium at 37 °C for 24-48 h. Staphylococcosis was modeled through intravaginal administration of *Staphylococcus aureus* 8325-4 daily culture to six-week-old female BALB/c mice in the dose of  $5 \times 10^7$  cells/animal. 3 groups of mice were formed: 1) *S. aureus* 8325-4 infected mice, that were administrated with 0.15 M NaCl into vagina (36 mice); 2) infected mice treated with *L. casei* IMV B-7280 into vagina in a dose of  $1 \times 10^6$  cells/animal once per day during 7 days (36 mice); 3) intact mice injected with 0.15 M NaCl into vagina (36 mice).

On the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> days after first probiotic strain administration intestine content was collected from mice and plated on several nutrient media: BAIRD-PARKER-Agar, KF-*Streptococcus* agar, ENDO, Sabouraud agar

(Merck, Germany), and BAIRD-PARKER-Agar with 15 µg/ml gentamicin (selective medium for *S. aureus* 8325-4 strain identification). After cultivation at 37 °C for 24 h, the number of colony forming units (CFU) was counted, given that one such colony corresponds to one bacterium.

Mice intestinal microbiota changed after *S. aureus* 8325-4 vaginal administration: *S. aureus* 8325-4 strain appeared in mice intestinal content during the observation period (12 days); increased number of staphylococci and microscopic fungi and reduce number of coliform bacteria was observed.

It was shown that quantity of *S. aureus* 8325-4 strain significantly decreased in the intestinal contents of infected mice after *L. casei* IMV B-7280 administration into vagina (starting from 3<sup>rd</sup> day after first probiotic administration) compared with infected mice that did not receive treatment. It was established that under the influence of *L. casei* IMV B-7280 in different periods of observation the number of other opportunistic microorganisms in the intestinal contents also varied. The total number of staphylococci was lower after *L. casei* IMV B-7280 treatment from the 1<sup>st</sup> day of study and decreased to the level of control on the 3<sup>rd</sup>-12<sup>th</sup> days. The number of streptococci appeared unchanged in the intestinal content of infected mice treated with *L. casei* IMV B-7280, while the number of coliform bacteria in different periods of observation kept low compared to the level of control (except 1<sup>st</sup> day). The number of microscopic fungi in the intestinal content of mice decreased after *L. casei* IMV B-7280 administration into vagina on the 9<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> days compared with infected mice that did not receive probiotic strain.

So, our data indicates that *L. casei* IMV B-7280 probiotic strain is promising to create immunobiotics with antibacterial activity, which can be used for the prevention and treatment of urogenital tract infections caused by opportunistic microorganisms and for simultaneous correction of vaginal and fecal microbiota.

**Kowalczyk B., Sokolowski W., Szuster-Ciesielska A., Palusińska-Szys M.**

#### INTERACTION OF *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* STRAINS WITH HUMAN MACROPHAGES

*Maria Curie-Skłodowska University  
Institute of Biological Sciences  
Department of Genetics and Microbiology  
19, Akademicka St., 20-033 Lublin, Poland  
b.kowalczyk746@wp.pl*

Gram-negative bacteria of the genus *Legionella* reside in water and soil ecosystems wherein they multiply within protozoa cells. After passing into artificial water systems, *Legionella* spp. can be disseminated by aerosol-generating devices. Inhalation of contaminated aerosol leads to proliferation of *Legionella* within a variety of eukaryotic cells, including human monocytes and alveolar macrophages. The bacteria withstand a variety of defense mechanisms of host phagocytes becoming an important etiological factor of multilobar pneumonia (Boamah et al., 2017). Attachment of bacteria to eukaryotic cells is an initial and crucial aspect of host-pathogen interaction, which determines the further course of infection. Adhesion is a two-step process whose initial phase involves non-specific factors affecting the physicochemical properties of the bacterial cell surface. Due to the lack of formation of a capsule or an exopolysaccharide, the predominant molecule on the *L. pneumophila* cell surface is the lipopolysaccharide (LPS), which is responsible for direct interaction with the host cell (Palusińska-Szys et al., 2019). This study was conducted on strains isolated from patients with Legionnaires' disease (Heysham-1 strain, Corby strain, 130b Wadsworth strain) and their mutants defective in the biosynthesis of the O-specific chain of LPS (T6-K13 mutant, TF 3/1 mutant, 16D12 mutant). *L. pneumophila* strains were inoculated in buffered yeast extract (BYE) broth and grown at 37°C with agitation at 180 rpm for 24 h to an OD<sub>600</sub> of 1.8. Binding assays were performed with THP-1-derived macrophages plated at 2×10<sup>5</sup> cells/well in 24-well plates (Palusińska-Szys et al., 2014). *L. pneumophila* strains were added to the THP-1-derived macrophages (multiplicity of infection MOI = 20). Serial dilutions of the inoculum and bacteria recovered from cells lysed with distilled water were plated on BCYE agar and incubated at 37°C for up to 4 days before *L. pneumophila* colony-forming units (CFU) were counted. The results were expressed as a ratio of adherent bacteria compared to the inoculum.

The binding assay revealed that the adhesive affinity among all tested mutant strains to macrophages was reduced compared to the wild strains. The results point to LPS molecules as an important structural determinant on the *L. pneumophila* cell surface, which are involved in the enhanced ability of the bacteria to adhere to the host cell surface.

**Lapkin A.<sup>1</sup>, Vasina Y.<sup>1</sup>, Venger A.<sup>1</sup>, Venger O.<sup>2</sup>**

#### DETERMINATION OF *GARDNERELLA VAGINALIS* BIOVARS BY POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD

<sup>1</sup>*Odessa National Medical University  
2, Valikhovsky Lane, Odesa, 65028, Ukraine*  
<sup>2</sup>*Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivars Investigations  
3, Ovidiopska St., Odesa, Ukraine  
xipyg53@gmail.com*

*Gardnerella vaginalis* is the part of the normal flora of the male and female genital tract, but under some conditions it is capable of causing gardnerellosis and is one of the leading causes in the development of bacterial vaginosis.

According to the antigenic composition, there are 7 biotypes of *G. vaginalis* (biotypes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7), moreover the most pathogenic biotypes are 2, 3, 7; while the rest of the biotypes usually don't cause diseases.

The identification of *G. vaginalis* is carried out by bacteriological and bacterioscopic methods, as well as by polymerase chain reaction (PCR). Detection of *G. vaginalis* biotypes is performed by serological methods.

The purpose of this scientific work was to develop PCR conditions that would not only advantage the detection of the presence of *G. vaginalis* in the biomaterial but also are able to identify its biotype. Such a technique would eliminate the time and resource costs of carrying out *G. vaginalis* biotyping in human biomaterial by serological methods.

Primer design and calculation of PCR temperature and time conditions were performed using VectorNTI-10 program on 221 nucleotide sequences of *tet* gene of *G. vaginalis* taken from the European Molecular Biology Laboratory (EMBL).

PCR simulation (PCR *in silico*) was performed using the FAST-PCR program.

The accomplished research enabled to detect and develop PCR system of identification of specific loci of *tet* gene of *G. vaginalis* with definite size for each biotype.

**Maryniuk M.<sup>1</sup>, Opryshko M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>1</sup>, Góralczyk A.<sup>2</sup>**

**IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT DERIVED FROM LEAVES OF *SANSEVIERIA KIRKII* BAKER (ASPARAGACEAE)**

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

*Sansevieria* Thunb., a genus with diverse ethnobotanical uses in its geographical distribution range, has occupied an important place among plant genera applied for the treatment of a broad spectrum of diseases and disorders (Khalumba and Mbugua, 2005; Staples and Herbst, 2005; Takawira-Nyenyanya et al., 2014). Members of *Sansevieria* are of great economic importance as ornamental plants mainly due to the multicolored and mottled leaves and the interesting wide variation in leaf shapes (Nazeer and Khoshoo, 1984). *Sansevieria* species are also used as a source of fiber and in traditional African medicine. Some studies revealed the antimicrobial activity of *Sansevieria* species (Onah et al., 1994; Aliero et al., 2008; Philip Deepa et al., 2011; Sheela et al., 2012). Similarly, in our previous study, we have evaluated the antibacterial capacity of ten species of *Sansevieria* genus against *Staphylococcus aureus* to validate scientifically the inhibitory activity for microbial growth attributed by their popular use and to propose new sources of antimicrobial agents (Buyun et al., 2016). The current study was designed to test the antibacterial efficacy of ethanolic extract prepared from *Sansevieria kirkii* Baker leaves against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* strains, clinically important bacteria, which are indicator organisms commonly used in various projects to monitor antibiotic resistance.

The leaves of *S. kirkii* were sampled in M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine). The whole collection of tropical and subtropical plants at M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. The sampled leaves were brought into the laboratory for antimicrobial studies. The leaves were brought into the laboratory for antimicrobial studies. Freshly crushed leaves were washed, weighed, and homogenized in 96% ethanol (in ratio 1:19, w/w) at room temperature. The extract was then filtered and investigated for their antimicrobial activity.

For this study, a panel of organisms including *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 25923™) (*mecA* negative), *S. aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 29213™) (*mecA* negative, Oxacillin sensitive, weak  $\beta$ -lactamase-producing strain), *S. aureus* NCTC 12493 (*mecA* positive, Methicillin-resistant, EUCAST QC strain for cefoxitin), *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 25922™), *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 35218™), *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula (ATCC® 27583™) were used. The cultivation medium was trypticase soy agar (Oxoid, UK), supplemented with 10% defibrinated sheep blood. Cultures were grown aerobically for 24 h at 37°C. The cultures were later diluted with a sterile solution of 0.9% normal saline to approximate the density of 0.5 McFarland standard. The McFarland standard was prepared by inoculating colonies of the bacterial test strain in sterile saline and adjusting the cell density to the specified concentration.

Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion assay (Bauer et al., 1966). Strains were inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extract were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37°C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of ethanolic extract obtained from the leaves of *S. aethiopica*. A negative control disc impregnated with sterile ethanol was used in each experiment. For each extract, eight replicates were assayed. The susceptibility of the test organisms to the plant extracts was indicated by a clear zone of inhibition around the holes containing the plant extracts and the diameter of the clear zone was taken as an indicator of susceptibility. Zone diameters were determined and averaged.

Zone diameters were determined and averaged. The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) using Statistica software, version 8.0 (StatSoft, Poland) (Zar, 1999). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq$  15 mm, Intermediate (I) = 10–15 mm, and Resistant (R)  $\leq$  10 mm (Okoth et al., 2013).

The results of antibacterial activity screening indicate that the extract has shown antibacterial activity against the entire tested organisms. The extract has shown better activity against *S. aureus* compared to the *E. coli* and *P. aeruginosa* strains. The diameters of inhibition zones were (13.8±0.9) mm, (18.2±1.2) mm, and (14.1±1.0) mm for *S. aureus* ATCC® 25923™, *S. aureus* ATCC® 29213™, and *S. aureus* NCTC 12493, respectively. The extract has shown less antimicrobial activities against *P. aeruginosa*. The mean of the inhibition zone was (9.3±0.9) mm. Finally, the ethanolic extract of *S. kirkii* leaves exhibited mild antibacterial activity against *E. coli* [mean of inhibition zone ranged (14.8±0.8) mm for *E. coli* ATCC® 25922™ and (14.5±1.1) mm for *E. coli* ATCC® 35218™]. The mean of inhibition zone diameters of the ethanolic extract obtained from leaves of *S. kirkii* was increased against *S. aureus* by 62% (ATCC® 25923™), by 114% (ATCC® 29213™), and by 66% (NCTC 12493), respectively, as well as against *E. coli* strains by 74% (ATCC® 25922™) and by 71% (ATCC® 35218™) compared to control sample (96% ethanol).

Therefore, based on data derived from previous and recent studies, the therapeutic actions of extracts derived from *Sansevieria* spp. plants are more likely related to the antibacterial properties of their constituents. This study demonstrates the promising antibacterial activity of *Sansevieria kirkii* against both Gram-positive and Gram-negative bacteria responsible for various ailments.

*The authors are grateful to The Visegrad Fund for supporting our study.*

**Opryshko M.<sup>1</sup>, Maryniuk M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>1</sup>, Góralczyk A.<sup>2</sup>**

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *DIEFFENBACHIA SEGUINE* (JACQ.) SCHOTT LEAF EXTRACT AGAINST *ESCHERICHIA COLI*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, AND *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

*Dieffenbachia* Schott is one of the most important genera of *Araceae* (Juss.) family and also sometimes represents one of the dominant plant groups in the forests of the New World (Croat, 2004). It includes 57 described species, but 140 are estimated (Croat, 2004; Boyce and Croat, 2014). *Dieffenbachia* is characterized by a terrestrial habit, with stout, unbranched stems bearing leaves clustered in a tight whorl at the stem apex (Croat 2004). The genus *Dieffenbachia* is one of the most popular as ornamental plants, also famous for its irritative nature that is caused by the combination of calcium oxalate (CaOx) crystals and a proteolytic enzyme (Ajuru et al., 2018).

*Dieffenbachia* may well be the most toxic genus in the *Araceae* family. It has been claimed that calcium oxalate crystals, a protein, and a nitrogen-free compound have been implicated in the toxicity. The toxicological effect of ethanol leaf extract of *Dieffenbachia seguine* (Jacq.) Schott was evaluated through an acute oral toxicity test on Wistar albino rats (Ajuru et al., 2018). Estimation of blood parameters is crucial in evaluating the toxicity of drugs as changes in the hematological system in animal studies have a high predictive value for human (Olson et al., 2000).

The current study was designed to test the antibacterial efficacy of ethanolic extract prepared from *Dieffenbachia seguine* leaves against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* strains, clinically important bacteria, which are indicator organisms commonly used in various projects in order to monitor antibiotic resistance.

The leaves of *D. seguine* were sampled in M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine). The sampled leaves of *D. seguine* were brought into the laboratory for analysis. Freshly crushed leaves were washed, weighed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated for their antimicrobial activity.

For this study, a panel of organisms including *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 25923™) (*mecA* negative), *S. aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 29213™) (*mecA* negative, Oxacillin sensitive, weak  $\beta$ -lactamase-producing strain), *S. aureus* NCTC 12493 (*mecA* positive, Methicillin-resistant, EUCAST QC strain for cefoxitin), *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 25922™), *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 35218™), *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula (ATCC® 27583™) were used. The cultivation medium was trypticase soy agar (Oxoid, UK), supplemented with 10 % defibrinated sheep blood. Cultures were grown aerobically for 24 h at 37 °C. The cultures were later diluted with a sterile solution of 0.9 % normal saline to approximate the density of 0.5 McFarland standard. The McFarland standard was prepared by inoculating colonies of the bacterial test strain in sterile saline and adjusting the cell density to the specified concentration.

Antimicrobial activity was determined using the agar disk diffusion assay (Bauer et al., 1966). Strains were inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extract were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37 °C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of ethanolic extract obtained from the leaves of *D. seguine*. A negative control disc impregnated with sterile ethanol was used in each experiment. At the end of the period, the inhibition zones formed were measured in millimeters using the vernier. For each extract, eight replicates were assayed. The plates were observed and photographs were taken. The susceptibility of the test organisms to the plant extracts was indicated by a clear zone of inhibition around the holes containing the plant extracts and the diameter of the clear zone was taken as an indicator of susceptibility. Zone diameters were determined and averaged. Zone diameters were determined and averaged. All statistical calculation was performed on separate data from each strain. The data were analyzed

using a one-way analysis of variance (ANOVA) using Statistica software, version 8.0 (StatSoft, Poland) (Zar, 1999). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq$  15 mm, Intermediate (I) = 10–15 mm, and Resistant (R)  $\leq$  10 mm (Okoth et al., 2013).

The extract obtained from the leaves of *D. seguine* has shown antibacterial activity against the entire tested organisms. The extract has shown better activity against *S. aureus* compared to the *E. coli* and *P. aeruginosa* strains. The diameters of inhibition zones were (15.9 $\pm$ 1.3) mm, (14.5 $\pm$ 1.2) mm, and (17.8 $\pm$ 1.1) mm for *S. aureus* ATCC<sup>®</sup> 25923<sup>™</sup>, *S. aureus* ATCC<sup>®</sup> 29213<sup>™</sup>, and *S. aureus* NCTC 12493, respectively. The extract has shown less antimicrobial activities against *P. aeruginosa*. The mean of the inhibition zone was (8.5 $\pm$ 0.9) mm. Finally, the ethanolic extract of *D. seguine* leaves exhibited mild antibacterial activity against *E. coli* [mean of inhibition zone ranged (16.4 $\pm$ 1.4) mm for *E. coli* ATCC<sup>®</sup> 25922<sup>™</sup> and (12.6 $\pm$ 1.1) mm for *E. coli* ATCC<sup>®</sup> 35218<sup>™</sup>]. The mean of inhibition zone diameters of ethanolic extracts obtained from leaves of *D. seguine* was statistically increased against *S. aureus* by 81% (ATCC<sup>®</sup> 25923<sup>™</sup>), by 69% (ATCC<sup>®</sup> 29213<sup>™</sup>), and by 112% (NCTC 12493), respectively as well as against *E. coli* strains by 84% (ATCC<sup>®</sup> 25922<sup>™</sup>) and by 45% (ATCC<sup>®</sup> 35218<sup>™</sup>) compared to control sample (96% ethanol).

The result lends credence to the ethnobotanical use of this plant in treating microbial infection and shows that *D. seguine* could be exploited for new potent antimicrobial agents. However, isolation and characterization of the active ingredients in this plant together with their mechanisms of actions on pathogens are still open for further investigations.

*The study was supported by a Scholarship Program supported by The Visegrad Fund realized in the Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk (Poland), and we thank for financial assistance for our study.*

**Opryshko M.<sup>1</sup>, Maryniuk M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>1</sup>, Góralczyk A.<sup>2</sup>**

**SCREENING FOR ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NINE ETHANOLIC EXTRACTS OBTAINED FROM LEAVES OF *BEGONIA* PLANTS AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUBSP. *AUREUS* STRAIN**

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland

Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland

e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

Plants belonging to the *Begonia* L. genus can be good candidates for as an alternative therapy in restricting the resistant infectious organisms. Some of the plants of the genus *Begonia* were previously reported for their antimicrobial activities (Holetz et al., 2002; Indrakumar et al., 2014; Amutha and Sreedevikumari, 2016; Shrestha et al., 2016). The antimicrobial activities of volatile compounds of intact plants of 24 *Begonia* species have been assessed against several pathogenic microorganisms (i.e. *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*). As a result, 14 *Begonia* species, possessing well-expressed phytoncide activity have been recommended to use as indoor plants, based on their ability to reduce microbial air pollution indoor by a factor of 1,5–3,0 in particular, by decreasing the *Staphylococcus aureus* load (Karpova et al., 2009; Tsybulia et al., 2011).

Considering the points based on previous results obtained in our laboratory, the present study aimed to find out *in vitro* possible antimicrobial action of the ethanolic extracts from leaves of nine *Begonia* species against *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC<sup>®</sup> 29213<sup>™</sup>) strain.

The leaves of *Begonia* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine (Kyiv, Ukraine). The leaves of *Begonia solimutata* L.B. Sm. & Wassh., *Begonia goegoensis* N.E.Br., *Begonia foliosa* Kunth, *Begonia*  $\times$  *erythrophylla* Hérincq, *Begonia thiemei* C.DC. (syn. *Begonia macdougallii* Ziesenh.), *Begonia peltata* Otto & Dietr. (syn. *Begonia kellermanii* C.DC.), *Begonia heracleifolia* Cham. & Schltldl., *Begonia dregei* Otto & Dietr., *Begonia mexicana* G. Karst. ex Fotsch was sampled for our study. The antimicrobial screening of *Begonia* leaf extracts has been carried out. Freshly crushed leaves were washed, weighed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:19) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated for their antimicrobial activity.

The testing of the antibacterial activity of the plant extracts was carried out *in vitro* by the Kirby-Bauer disc diffusion technique (Bauer et al., 1966). The *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC<sup>®</sup> 29213<sup>™</sup>) strain was used in the current study. The testing of the antibacterial activity of the plant extracts was carried out *in vitro* by the Kirby-Bauer disc diffusion technique (Bauer et al., 1966). The strain was inoculated onto Mueller-Hinton (MH) agar plates. Sterile filter paper discs impregnated with extracts were applied over each of the culture plates. Isolates of bacteria were then incubated at 37°C for 24 h. The plates were then observed for the zone of inhibition produced by the antibacterial activity of ethanolic extract obtained from the leaves of various extracts of plants belonging to the *Begonia* genus. A negative control disc impregnated with sterile ethanol was used in each experiment. At the end of the period, the inhibition zones formed were measured in millimeters using the vernier. For each extract, eight replicates were assayed. The plates were observed and photographs were taken. The susceptibility of the test organisms to the plant extracts was indicated by a clear zone of inhibition around the holes containing the plant extracts and the diameter of the clear zone was taken as an indicator of susceptibility. Zone diameters were determined and averaged.

The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) with Statistica software, version 8.0 (StatSoft, Poland) (Zar, 1999). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S)  $\geq$  15 mm, Intermediate (I) = 10–15 mm, and Resistant (R)  $\leq$  10 mm (Okoth et al., 2013).

Our study demonstrated that all ethanolic extracts obtained from leaves of *Begonia* species exhibited high activity against *S. aureus* subsp. *aureus*. The diameter of the inhibition zone for *B. solimutata* was (13.5±1.2) mm, for *B. goegoensis* – (13.8±0.9) mm, for *B. foliosa* – (13.6±1.0) mm, for *Begonia* × *erythrophylla* – (13.9±1.1) mm, for *B. thiemei* – (13.6±1.2) mm, for *B. peltata* – (15.9±1.4) mm, for *B. heracleifolia* – (13.9±1.1) mm, for *B. dregei* – (14.7±1.0) mm, and for *B. mexicana* – (14.9±1.3) mm. It should be noted that the most effective plants among species screened against *S. aureus* subsp. *aureus* was *B. peltata*, *B. mexicana*, and *B. dregei*, being highly active with the ethanolic extract (diameters of inhibition zone were ranged from 11.5 to 19.5 mm). The highly active antimicrobial effects of extracts obtained from *B. peltata* and *B. mexicana* noted against *S. aureus* subsp. *aureus* is worthy of highlighting.

Variation in the chemical profile of extracts could influence their biological activities. Therefore, it was important to evaluate the chemical composition of extracts to correlate with their antimicrobial activities. The preliminary phytochemical studies revealed the presence of flavone, sterol, triterpene in hexane, chloroform, and methanol extracts; phenol in chloroform and methanol extracts and quinone, saponin, tannin, and starch in methanol extract of *B. malabarica* (Ramesh et al. 2002). Preliminary phytochemical screening of *B. floccifera* and *B. malabarica* conducted by Ariharan et al. (2012) showed the presence of vitamin C in the leaves of both plant species assayed. Additionally, the flavonoids content (including glycosides of quercetin and kaempferol), anthocyanins and ascorbic acid in overground part of plants of 7 species and cultivars of genus *Begonia* (*B. bahiensis*, *B. bowerae*, *B. carolineifolia*, *B. fischeri*, *B. heracleifolia*, *B. 'Erythrophylla'*, *B. 'Helen Teupel'*) were determined by Karpova and co-workers (2009). The flavonoids content was 24–650 mg% of dry weight, including glycosides of quercetin – 3–76 mg%. Kaempferol glycosides were detected only in species of section *Gireoudia* (1.2–5.7 mg%). The contents of anthocyanins were between 60 and 157 mg%, ascorbic acid – 5–43 mg% of fresh weight. These results suggest that studied plants of *Begonia* species can be considered as the sources of biologically active compounds with antioxidant and antimicrobial activities (Karpova et al., 2009).

This *in vitro* study corroborated the antimicrobial activity of the selected plants belonged to the *Begonia* genus. All these plants were effective against *S. aureus* subsp. *aureus*. This study also showed that *B. peltata*, *B. mexicana*, and *B. dregei* could be potential sources of new antimicrobial agents. The identification of active compounds and their mode of action requires further investigation for antibacterial drug development.

*The authors are grateful to the The Visegrad Fund for supporting our study.*

**Pękala-Safińska A.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>3</sup>, Honcharenko V.<sup>4</sup>,  
Prokopiv A.<sup>4,5</sup>, Osadowski Z.<sup>2</sup>**

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEAF EXTRACT OBTAINED FROM *FICUS MALAYANA*  
C.C.BERG & CHANTARAS (MORACEAE) AGAINST *AEROMONAS* SPP. STRAINS

<sup>1</sup>Department of Fish Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland

e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

<sup>3</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>4</sup>Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005, Ukraine

<sup>5</sup>Botanic Garden of Ivan Franko Lviv National University, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine

In recent years the use of antibiotics to treat and control fish diseases has been banned in the EU (Beltrán et al., 2018). Prophylactic methods based on stimulation of the fish immune system (i.e., vaccination, probiotics, and immunostimulation) have been successfully used for this purpose and have become an integrated part of the management of modern aquaculture processes (Magnadottir, 2010). Due to the increasing demand for chemical diversity in screening programs, an extensive search for therapeutic drugs from natural products to be used in aquaculture has grown throughout the world (Defoirdt et al., 2011; Cobello et al., 2013; Kumar and Bossier, 2018). Plant-based products, such as phenolics, polyphenols, alkaloids, quinones, terpenoids, lectins, and polypeptides are very effective alternatives to antibiotics and other synthetic compounds for an efficient treatment against microbial infection in aquaculture (Citarasu, 2010; Wunderlich et al., 2017; Kumar and Bossier, 2018).

The pantropical genus *Ficus* L., with its approximately 750 species, is the largest within the family and one of the most speciose genera of flowering plants and is a well-known genus used worldwide since ancient times in traditional and folk medicine (Berg and Wiebes, 1992; Cook and Rasplus, 2003; Berg and Corner, 2005). Among the pharmacological properties demonstrated for the compounds present in genus *Ficus* are anticonvulsant, anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial, antiviral, hypolipidemic, antioxidant, immunomodulatory, antiasthmatic, parasympathetic modulatory, estrogenic, antitumor, antiulcer, antianxiety, antihelminthic, analgesic, tonic, anti-diabetic, antipyretic, anti-inflammatory, antitussive, hepatoprotective activities, etc. (Ahmed and Urooj, 2010; Lansky and Paavilainen, 2011; Singh et al., 2011; Dangarembizi et al., 2012; Badgujar et al., 2014; Bunawan et al., 2014; Yadav et al., 2015). For all these reasons, plants belonging to the genus *Ficus* could be considered a priori as a good source of new natural compounds to treat, prevent and control fish diseases in aquaculture.

*Ficus malayana* C.C.Berg & Chantaras is widely distributed in Borneo, Malaya, and Thailand. The plant is a very common small forest tree to 6 m, often a roadside shrub. The leaf is large and slightly asymmetrical with a small lobe at

the base of the leaf which does not usually cover the petiole (leaf stalk). The leaves are hairy and dentate (toothed). Male figs only produce pollinating fig wasps, not seeds. Only female figs produce seeds. Bright red hairless (glabrous) fig with prominent bracts with hooked ends. The sweet ripe female figs are eaten by locals (Berg and Chantarasuwan, 2007).

In this study, we evaluated the antimicrobial activity of the ethanolic extract of *F. malayana* against fish pathogen – three *Aeromonas* strains (*Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*) to evaluate the possible use of this plant in preventing infections caused by these bacteria in aquaculture.

The current investigation was conducted as a part of an ongoing project between the Institute of Biology and Earth Sciences (Pomeranian University in Slupsk, Poland), National Veterinary Research Institute (Puławy, Poland), M.M. Gryshko National Botanic Gardens of National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine), and Ivan Franko National University in Lviv (Lviv, Ukraine) undertaken in the frame of cooperation program aimed at assessment of medicinal properties of tropical plants, cultivated *in vitro*.

The leaves of *F. malayana* were washed, weighed, and homogenized in 96% ethanol (in proportion 1:10) at room temperature, and centrifuged at 3,000 g for 5 minutes. Supernatants were stored at -20°C in bottles protected with the laminated paper until required.

Three *Aeromonas* strains: *Aeromonas sobria* (K825) and *Aeromonas hydrophila* (K886), as well as *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (St30), originated from freshwater fish species such as common carp (*Cyprinus carpio* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), respectively, were isolated in Department of Fish Diseases, The National Veterinary Research Institute in Pulawy (Poland). Bacteria were collected from fish exhibiting clinical disorders. Each isolate was inoculated onto trypticase soy agar (TSA) (BioMérieux) and incubated at 27°C±2°C for 24 h. Pure colonies were used for biochemical identifications, according to the manufacturer's instructions, except the temperature of incubation, which was at 27°C ± 1°C. The following identification systems were used in the study: API 20E, API 20NE, API 50CH (BioMérieux). Presumptive *Aeromonas* isolates were further identified to the species level by restriction analysis of 16S rDNA genes amplified by polymerase chain reactions (PCR) (Koziońska, 2007).

Antimicrobial susceptibility of the tested *Aeromonas* isolates was performed by the Kirby-Bauer disc diffusion method (1966), according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2014). Each inoculum of bacteria in the density of 0.5 Mc McFarland was cultured on Mueller–Hinton agar for 24 h at 28±2°C before the determination of results. The zones of growth inhibition around each of the disks were measured to the nearest millimeter. The results of the disk diffusion test are “qualitative,” in that a category of susceptibility (i.e., susceptible, intermediate, or resistant) is derived from the test rather than a MIC (Jorgensen and Ferraro, 2009). The following zone diameter criteria were used to assign susceptibility or resistance of bacteria to the phytochemicals tested: Susceptible (S) ≥ 15 mm, Intermediate (I) = 10–15 mm, and Resistant (R) ≤ 10 mm (Okoth et al., 2013).

Our results of the disc diffusion screening revealed, that *F. malayana* possessed antibacterial properties against *Aeromonas* strains. The ethanolic extract obtained from leaves of *F. malayana* exhibited the maximum antimicrobial activity against *Aeromonas sobria* strain (inhibition zone diameter was 20.25±1.07 mm), *Aeromonas hydrophila* (12.25±0.65 mm), and *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (10.38±0.32 mm). The most susceptible strain to the antimicrobial activity of *F. malayana* was *Aeromonas sobria* strain. In response to the development of drug-resistant pathogens in aquaculture remarkable progress in the field of antibacterial herbal therapy has been made in recent years based on *ex situ* cultivated plants, *Ficus* genus, in particular (Tkachenko et al., 2016-2019).

Based on the above investigation it can be concluded that the leaf extract of *F. malayana* has bactericidal properties which make it very attractive for use in fish aquaculture. Based on the above investigation it can be concluded that its uses will reduce the side effects of applying synthetic compounds. Further study is needed to determine the effects of the active compounds presented in the leaf extract of *F. malayana* on fish metabolism both *in vitro* and *in vivo* study. Present results suggest the possibility of using such extracts *in vivo* studies to corroborate if it could be possible to use those extracts in aquaculture to achieve protection against pathogenic infections.

*This research has been supported by The International Visegrad Fund and it is cordially appreciated by authors.*

**Putivskiy I.<sup>1</sup>, Havryliuk O.<sup>2</sup>, Hovorukha V.<sup>2</sup>, Tashyrev O.<sup>2</sup>**

THE EFFECT OF TOXIC COPPER(II) COMPOUNDS ON RETRO MICROBIOME  
OF «OPTYMISTYCHNA» CAVE

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv  
ESC «Institute of Biology and Medicine»

2, Akademik Hlushkov Ave., Kyiv, 03022, Ukraine

<sup>2</sup>D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU  
154, Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine  
illyaputivskiy@gmail.com

Soluble copper (II) compounds are among the most toxic pollutants of the environment. Even at low concentration (10-20 ppm) Cu(II) has a detrimental effect on most living organisms, including the microbiome of natural ecosystems. The toxic effect of copper is manifested in the inactivation of active centres of enzymes as well as substitution of macroelements (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) in microbial cells (Babushkina, 2010). Therefore, the study of quantitative patterns of adaptation of microorganisms to copper (II) allows identifying the major mechanisms of microbial resistance to toxic

copper compounds. Thus, the aim of our work was to determine the resistance of the microbiome of the karst cave «Optymistychna» clay to soluble Cu(II) compounds.

Clay samples were collected from «Optymistychna» gypsum cave located in Ternopil Region of Ukraine. It is the longest natural cave in Eurasia and the fifth-longest cave in the world. This cave has been completely isolated from any man-made pollutants, including Cu(II) compounds during 14 million years. That is why it is the perfect object to study the response of non-adapted to copper microbiome.

The thermodynamic prognosis (Tashyrev, 2008) was applied as the theoretical background to predict the possibility of isolation of copper(II) resistant microorganisms from retro ecosystem of «Optymistychna» cave. Microbial resistance was determined by the number of colony forming units (CFU) on the agarized nutrient media that contained the concentration gradient of Cu(II) (0-4000 ppm) with the increments in 100 ppm. Accumulation of Cu(II) in microbial colonies was confirmed by H<sub>2</sub>S test forming dark brown colour of CuS.

The microbial growth at the presence of the oxidized forms of toxic metals at high concentrations is theoretically permissible if the redox potential of the system formed by the metal and its reduced form, in its high concentration, is within the zone of thermodynamic stability of water ( $-414 \leq E_0' \leq +814$  mV). The microorganisms resistant to copper(II) in high concentration were present in clay of «Optymistychna» cave. They grew on the Nutrient Agar medium containing Cu(II) up to 250 ppm Cu<sup>2+</sup> (in the form of CuSO<sub>4</sub>) and up to 4000 ppm Cu<sup>2+</sup> (in complex with citrate). Cultivation on Gisa medium led to decrease of microbial resistance to Cu(II) to 100 ppm Cu<sup>2+</sup> (in the form of CuSO<sub>4</sub>) and up to 1750 ppm Cu<sup>2+</sup> (in complex with citrate). The number of alive microorganisms was high,  $1.28 \cdot 10^3$  CFU/g even at 4000 ppm Cu<sup>2+</sup>. Chelation of copper (II) with citrate led to 16-17.5 times increase of microbial resistance. The dependence between the number of alive cells and Cu(II) concentration was described by the hyperbolic curve, confirming the toxic effect of Cu(II) compounds on microorganisms. The right shoulder of hyperbole characterizes the maximum permissible concentration (MPC) of copper for the microbiome of the cave.

Thus, the quantitative patterns of retro microbiome resistance to copper(II) is theoretical based and experimentally confirmed for development biotechnologies of copper-contaminated ecosystems bioremediation.

**Sovinska R., Dunich A., Mishchenko L., Lytvynova Y.**

MONITORING OF GLADIOLUS PLANTINGS IN KYIV, POLTAVA AND SUMY  
REGIONS FOR VIRAL INFECTIONS AND IDENTIFICATION OF THE PATHOGENS

*Kyiv National Taras Shevchenko University  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine  
Roksolana1@meta.ua*

Gladiolus is a perennial tuber plant that can serve as a reservoir of dangerous viral infections such as cucumber mosaic virus, bean yellow mosaic virus, tobacco ringspot virus, tomato spotted wild virus, tobacco rattle virus, tobacco streak virus, arabis mosaic virus (Katoch, 2003; Arneodo, 2005; Cremer, 1967; Lee, 1979; Bellardi, 1987). All of the listed viruses affect a wide variety of hosts which include economically important crops.

The purpose of the work was to check for the presence and identify viral pathogens in private plantations of gladioli in the Kiev, Poltava and Sumy regions. Our research was focused on the detection of cucumber mosaic virus and bean yellow mosaic virus as they cause significant economic losses in our country and these infections can be detected on gladioli worldwide. Some samples have been tested for the presence of tobacco ringspot virus, which belongs to the list of regulated pests of Ukraine.

Sampling was carried out not only based on signs of viral infection (hatching mosaic, flower color break), but also visually healthy plants were sampled on the territory of private households of Kyiv, Poltava and Sumy regions in the summer-autumn period of 2019. Thus, 63 samples of gladioli were obtained of such cultivars as Pamiat, Lehenda Kieva, Viy, New Day, Primadonna, Silva, Mirage, Merezhivo, Leda, Avard, Veier, Siyanets Korichneviy, Strilka.

To detect and identify viruses in gladiolus plant samples double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) was used. Thus, all the samples were tested for infection with the yellow bean mosaic virus. Viral infection was confirmed in 53 samples. Infected gladioluses of Pamiat, Siyanets Korichneviy, Lehenda Kieva and Leda cultivars were detected in the Poltava region (18 out of 26 samples tested). In the territory of the Kiev region, of 34 studied samples bean yellow mosaic virus was detected in 30 samples. As for the Sumy region, out of the three samples tested, yellow bean mosaic virus was detected in two samples of selected gladioli.

Sixteen samples from the Kiev region were tested for cucumber mosaic virus. The viral infection was confirmed in 15 samples. In the territory of Poltava region in five samples of gladioluses cucumber mosaic virus was detected out of 9 examined. In Sumy region, the presence of the virus was not confirmed in any of the samples tested.

A particular threat is that symptoms of viral infection may not be visible (Navalinskiene, 2004), so these plants are able to act as reservoirs for viruses and through vectors can infect other susceptible plant cultures. Out of 10 plants that did not show visible signs of infection when selected, double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay confirmed mono- or mixed viral infection in 6 samples (three gladiolus plants had coinfection, two were infected with cucumber mosaic virus and one with bean yellow mosaic virus monoinfection).

In total, 27 samples of gladiolus plants were tested for both cucumber mosaic virus and bean yellow mosaic virus. Coinfection was confirmed in 17 of the analyzed samples, five samples were infected with only bean yellow mosaic



virus and only two were infected with cucumber mosaic virus monoinfection.

As for the tobacco ringspot virus, this pathogen was not detected in any of the 15 tested gladiolus samples.

Thus, our studies have shown the presence of bean yellow mosaic virus and cucumber mosaic virus in gladiolus plantings, a significant level of affection, as well as the fact that these viruses are most often detected in coinfection.

**Vasina Y.<sup>1</sup>, Lapkin A.<sup>1</sup>, Venger A.<sup>1</sup>, Venger O.<sup>2</sup>**

BIOLOGICAL BIODIVERSITY OF THE PATHOGENIC GENE 16 S RRNA  
OF *GARDNERELLA VAGINALIS*

<sup>1</sup>Odesa National Medical University

2, Valikhovsky Lane, Odesa, 65028, Ukraine

<sup>2</sup>Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivars Investigations

3, Ovidiopolska St., Odesa, Ukraine

yuliyavasinaod@gmail.com

*Gardnerella* is a genus of anaerobic bacteria which is consistent of the only species *Gardnerella vaginalis*.

*G. vaginalis* is the part of the normal flora of the male and female genital tract, but under some conditions it is capable of causing gardnerellosis and is one of the leading causes in the development of bacterial vaginosis. According to definition (Ankirkirskaya, 2005), bacterial vaginosis is an infectious non-inflammatory syndrome, which is characterized by a sharp decrease or absence of lactoflora and its replacement by polymicrobial associations of strict anaerobes and *Gardnerella*. By reducing the amount of lactoflora *G. vaginalis* begins to show its pathogenic properties. As one of the main end products of fermentation is acetic acid, the pH changes in the vagina, which in turn is a stimulus for the development of other pathogenic bacteria and the mass suppression of lactoflora.

Symptoms of gardnerellosis, or bacterial vaginosis:

- vaginal excreta (creamy, with a sharp, unpleasant smell of spoiled fish);
- itchiness;
- discomfort at rest and during sexual intercourse.

Diagnostic during pregnancy of gardnerellosis is important because if the process is neglected, it can lead to serious consequences such as uterine bleeding, postpartum endometritis, etc. Vertical transmission of this disease is also possible.

Less commonly, *G. vaginalis* causes urethritis and balanoposthitis in men, but this does not give rise to such a diagnosis as gardnerellosis. In this case, it is necessary to talk about nonspecific urethritis or balanoposthitis associated with *G. vaginalis*. Symptoms that are of concern to men are not specific and correspond to the localization of the infectious process: accelerated urination, discomfort during urination, itchiness and redness on the surface of the penis head. The purpose of this scientific research was to investigate the biological diversity of *G. vaginalis* pathogenicity (16 S rRNA) gene.

The nucleotide sequences of the 16 S rRNA genes of *G. vaginalis* taken from the National Bank for Biotechnology Information (NCBI) were used for alignment. Local alignment was performed using the Smith-Waterman algorithm (Smith, Waterman, 1981) using the online program “blastn”.

The nucleotide sequences of the gene 16 S rRNA of *G. vaginalis* were aligned against the sequences of the entire gene bank database. We have found ten nucleotide sequences of 16 S rRNA genes of different microorganisms. According to the results of the alignment, the dendrogram was constructed. Reliability of the research was checked by the bootstrap analysis.

**Zaremba A.<sup>1</sup>, Zaremba P.<sup>1</sup>, Zaychenko O.<sup>1</sup>, Platonov M.<sup>2</sup>, Naumenko K.<sup>3</sup>, Zagorodnya S.<sup>3</sup>**

SEARCH FOR POTENTIAL INHIBITORS OF EPSTEIN-BARR VIRUS PROTEIN BHRF1  
AND CONFIRMATION OF ITS PHARMACOLOGICAL VALUE

<sup>1</sup>ESC “Institute of Biology and Medicine”

Taras Shevchenko National University of Kyiv

64/13, Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

<sup>2</sup>Enamine Ltd., 78, Chervonotkatska St., 02094, Kyiv, Ukraine

<sup>3</sup>Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU

154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine

vstyp17@gmail.com

High-Throughput Virtual Screening (HTVS) is one of the most common methods of finding promising effector compounds and one of steps in the drug development process. Relative availability and high speed allows to perform screening of a large number of compounds over a relatively short period of time. With a large number of potential candidates selected compounds are often screened several times using the more sophisticated and demanding approaches: SP (standard precision) and XP (extra precision). Thus, unsuitable substances are eliminated and a small number of the most promising structures remain. Finally, molecular-dynamic studies are often conducted for better understanding of interaction mechanisms of the studied structure with the selected substances.

We have done HTVS of chemical compound database of Enamine Ltd. to identify compounds capable of interacting with the BH3-binding site of the Epstein-Barr virus (EBV) anti-apoptotic protein BHRF1. Subsequently,

additional SP screening was performed to identify a smaller number of the most promising compounds. Thus, we identified 11 candidates for the competitive inhibitor of the protein BHRF1. Molecular-dynamic studies of each of the identified structures were performed for better understanding of structural features in the receptor-ligand interaction. The complexes were simulated for 50 ns in a clear solvent, with a corresponding physiological concentration of sodium and chlorine ions.

*In vitro* studies were performed to compare and confirm the results obtained *in silico*. Each selected compound was tested for cytotoxicity. There were two cell lines used in the study, all of which are included in the catalog of The European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC): Wish – human amnion cells and B95-8 – EBV-transformed B-lymphocytes of marmoset. The cytotoxic effect of the substances was determined using the MTT method, on the basis of which the IC<sub>50</sub> parameters were calculated. Studies have shown that 7 of 11 tested substances effectively inhibit the proliferation of the B95-8 EBV-positive culture, compared to the EBV-negative Wish. Z-2 gave the best results with its IC<sub>50</sub> (Wish) 280 µg/ml and IC<sub>50</sub> (B95-8) 42 µg/ml. Other substances that also gave positive results (Z-1, Z-3, Z-6, Z-7, Z-8, Z-10) showed 2-5 times higher inhibitory activity against EBV-positive culture.

Considering the results, it can be concluded that the BHRF1 protein is probably a promising target for the development of drugs against EBV-related pathologies. In addition, compound Z-2 can be considered suitable for further studies aimed at identifying and improving its pharmaceutical potential for the development of a drug with antitumor properties.

**Zaremba P.<sup>1</sup>, Zaychenko O.<sup>1</sup>, Zaremba A.<sup>1</sup>, Shermolovych Yu.<sup>2</sup>, Naumenko K.<sup>3</sup>, Zagorodnya S.<sup>3</sup>**

ANTIVIRAL ACTIVITY OF FLUORINE-CONTAINING COMPOUNDS  
AGAINST INFLUENZA VIRUS A H1N1

<sup>1</sup>ESC “Institute of Biology and Medicine”  
Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Organic Chemistry of NASU  
5, Murmanska St., Kyiv, 02660, Ukraine

<sup>3</sup>Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU  
154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine  
polinakarpets@gmail.com

Influenza A virus (IAV) H1N1 takes a special place among influenza viruses as the causative agent of the largest pandemics of 1918 and 2009. And even 10 years after the last global outbreak, it continues to cause epidemics. Nowadays, there is no universal drug against IAV, to which none of the serotypes are resistant. Oseltamivir (the commercial name is “Tamiflu”) is considered to be the most effective in the pharmaceutical market. Fluorine plays an important role in drug development, primarily because of its unique properties. It is the most reactive non-metal and strong oxidizer. Today there are few antiviral drugs among a wide variety of fluorine-containing compounds, but they are quite efficient.

The purpose of this work was to determine the cytotoxicity and antiviral activity of fluorine-containing organic compounds 10S-45 – 10S-49. These samples are mixtures of diastereomers, the names of each component being given using stereochemical descriptors according to the R-, S-nomenclature. The studies were performed on cell culture MDCK – Madin-Darby canine kidney cells. Cytotoxicity was determined using the MTT method based on the determination of mitochondrial (metabolic) activity of cells. The cytotoxicity of the compounds ranged from 471 to 1156 µg/ml.

Antiviral activity of the compounds was tested in the dilution range of 0.5–100 µg/ml. Compound 10S-49 showed no activity against IAV. As for other substances, the following patterns were found: with decreasing of concentration, the percentage of antiviral activity increased. All substances except 10S-47 inhibited virus reproduction by 12–30 % at the highest concentration and by 66–70 % at the lowest. Compound 10S-47 showed an average of 67 % of antiviral activity at all tested concentrations. For reference oseltamivir was taken, which showed an average of 81 % inhibition of IAV reproduction at relevant concentrations.

Given that oseltamivir is a neuraminidase (NA) inhibitor, it was decided to test the probability of binding test compounds to NA by molecular dynamics. For this purpose, the protein complex with a pre-docked compound was simulated for 35 ns in an explicit solvent, with a corresponding concentration of sodium and chlorine ions. The simulation of the oseltamivir-NA complex, performed under the above conditions, was the reference point for the analysis. The results obtained (compounds leave the active enzyme center within 5-15 ns from the start of the simulation) indicate a very low likelihood of effects of these substances on NA activity.

Thus, the results of the studies indicate the ability of fluorine-containing compounds to inhibit the reproduction of influenza virus and the relevance of further study of their mechanisms of action.

**Zaychenko O.<sup>1</sup>, Zaremba P.<sup>1</sup>, Mukha I.<sup>2</sup>, Naumenko K.<sup>3</sup>, Zagorodnya S.<sup>3</sup>**

INHIBITIVE EFFECT OF GOLD NANOPARTICLES ON EBV-ASSOCIATED TUMOR CELLS

<sup>1</sup>ESC "Institute of Biology and Medicine"

Taras Shevchenko National University of Kyiv  
64/13, Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

<sup>2</sup>Chuiko Institute of Surface Chemistry of NASU  
17, General Naumov St., Kyiv, 03164, Ukraine

<sup>3</sup>Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU  
154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine  
olegzayka044@gmail.com

One of the actual problems of today is the search for drugs with anaplastic properties, in particular for tumors whose development is caused by viruses. These viruses include a representative of the *Herpesviridae* family - the Epstein-Barr virus (EBV). This virus causes a whole spectrum of lymphoproliferative diseases. Recently, much attention has been paid to the study of the antitumor properties of metal nanoparticles and their oxides as both mono- and combinatorial therapy.

The aim of our work was to study the biological activity of 5 nm gold nanoparticles on a model of EBV-associated B-lymphoma. Cell line B95-8 was used in the experiment, which is characterized by chronic production of infectious virus. In the course of the research, we were analyzing the effect of the tested nanoparticles on the proliferative activity of cells with detection of membrane permeability (0.4% trypan blue), determination of mitochondrial activity (MTT test) and the state of the lysosomal system (neutral red), and the level of viral DNA by PCR. Samples were sampled after 4 and 24 hours. An additional influence factor was laser irradiation.

The overall scheme of analysis included the addition nanoparticles to the cell cultures in different concentrations and their irradiation after 4 or 24 hours. Analyzing the data obtained, a significant inhibition of mitochondrial activity (for 98 %) was found after 4 hours with the addition of 1:1000 gold nanoparticles and laser irradiation for 5 minutes, but with no activation of lysosomal activity. PCR analysis of the samples at this time point revealed a significant (80 %) decrease in the amount of EBV DNA. However, in the 24-hour point, these patterns were not observed.

Thus, the results of the studies showed the ability of gold nanoparticles with a diameter of 5 nm to inhibit the development of EBV-associated tumor cells by inhibiting replication of viral DNA under the condition of nanoparticles activation by laser. Further research will provide new approaches to the fight against cancer, caused by viral infections.

## ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE

**Андрушевич М.О.<sup>1</sup>, Ляшенко В.П.<sup>1</sup>, Мізін В.В.<sup>2</sup>**

ПОКАЗНИКИ ОСМОТИЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ  
У САМЦІВ ЩУРІВ У ПЕРІОДІ СТАРЕЧИХ ЗМІН

<sup>1</sup>Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
просп. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна

<sup>2</sup>Придніпровська державна академія фізичної культури і спорту  
вул. Набережна Перемоги, 10, м. Дніпро, 49000, Україна  
shen.shenov@gmail.com

**Andrushevych M., Liashenko V., Mizin V.** CHANGES INDICES IN THE OSMOTIC RESISTANCE OF ERYTHROCYTE OF MALE RATS RELATED TO MARKED SENILE CHANGES OF THE ORGANISM. Changes indices in the osmotic resistance of erythrocyte of male rats related to marked senile changes of the organism were investigated. It was determined that the osmotic resistance of erythrocyte is likely to increase with age and the maximum was recorded in males of advanced age. The rate of hemolysis in rats expressed senile changes decreases depending on age.

Осмотична резистентність еритроцитів (ОРЕ) – це один із показників стабільності еритроцитів, а також маркер метаболічних зсувів. Даний метод визнаний найдоступнішим методом дослідження, зміни якого у процесі вікової інволюції ще недостатньо вивчені.

У тварин різного віку однакові чинники викликають кількісно і якісно різні зміни, тому встановлення чітких вікових особливостей є важливою умовою під час проведення досліджень. Експерименти проводили на нелінійних безпородних білих щурах. Тварини були поділені на 3 групи: самці передстаречого віку, самці старечого віку, а також самці гранично старого віку (періоду виражених старечих змін). Показники осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) визначали за стандартною методикою у модифікації Л. І. Ідельсона. Відсоток гемолізу у кожній пробірці обчислювали, порівнюючи значення екстинкції надосадової рідини з екстинкцією, яку приймали за 100 %. Методом парних порівнянь проводили статистичну обробку результатів, достовірність визначали за t-критерієм Стьюдента.

У передстаречому віці показник осмотичної резистентності еритроцитів самців становив  $0,45 \pm 0,02$  %, а показник необоротного 80 % гемолізу -  $0,2 \pm 0,08$  %. У самців старечого віку гемоліз наставав за концентрацій, близьких за значенням до показників ОРЕ самців передстаречого віку, та дорівнював  $0,46 \pm 0,03$  %.

У самців старечого віку необоротний гемоліз розпочинався за вірогідно нижчих концентрацій розчину –  $0,17 \pm 0,06$  % щодо показників попередньої вікової групи. У гранично старому віці 50 % гемоліз розпочинався за концентрацій розчину NaCl, вірогідно вищих порівняно з показниками самців передстаречого та старечого віку і дорівнював  $0,55 \pm 0,04$  %. У самців гранично старого віку необоротний гемоліз наставав за концентрації  $0,35 \pm 0,08$  % NaCl.

Кут апроксимації у самців передстаречого віку становив  $7,0 \pm 0,4$ , а у самців старечого віку -  $7,7 \pm 0,49$ . Кут апроксимації швидкості гемолізу в самців гранично старого віку становив  $8,13 \pm 0,63$  - це найвищий показник порівняно з іншими віковими групами.

Аналіз отриманих результатів досліджень показав, що у щурів гранично старого віку нижча осмотична стійкість мембрани еритроцитів, а також вірогідно вища швидкість гемолізу порівняно зі щурами передстаречого та старечого віку.

Отримані результати можуть бути пов'язані з накопиченням іонів кальцію, зменшенням пластичності мембран, підвищенням в'язкості біліпідного шару мембрани еритроцитів і підвищенням вмісту скелетних білків (Козак М.В., 2015, Нестеров Ю.В., 2015, Flores-Sotoa E., 2017). Морфофункціональні та фізико-хімічні зміни в еритроцитах зумовлюють зниження здатності клітин до деформації, а також зниження стійкості до гіпотонічних розчинів та інших негативних чинників. Результати дослідження ще раз підтверджують, що вік лабораторних щурів є важливим чинником у процесі вивчення різних впливів на показники осмотичної резистентності еритроцитів.

**Галан С.М., Мазур Г.М., Мерлавський В.М., Манько Б.О., Манько В.В.**

ВПЛИВ ЕТАНОЛУ *IN VITRO* НА ДИХАННЯ ГЕПАТОЦИТІВ  
ЗА ОКИСНЕННЯ ГЛЮКОЗИ, ПІРУВАТУ АБО МОНОМЕТИЛСУКЦИНАТУ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
sophiahalan@gmail.com

**Halan S., Mazur M., Merlavskiy V., Manko B., Manko V.** THE EFFECT OF ALCOHOL *IN VITRO* ON THE RESPIRATION RATE OF HEPATOCYTES UPON GLUCOSE, PYRUVATE OR MONOMETHYL SUCCINATE. Ethanol is metabolized mostly by the liver. The effect of ethanol *in vitro* on the maximal rate of FCCP-uncoupled respiration was investigated. It was established that ethanol caused increase maximal rate of uncoupled respiration upon glucose oxidation, but not when pyruvate or monomethyl-succinate were present.

Процеси мітохондріального дихання гепатоцитів є інтегральним параметром функціонального стану клітин і, відповідно, печінки. Одним із чинників, що може впливати на показники інтенсивності та швидкості дихання гепатоцитів, є етанол, метаболізм якого в основному здійснюється в печінці. Коли швидкість метаболізму етанолу менша за швидкість його надходження, то накопичення етанолу призводить до ураження клітин печінки й організму. Мета роботи – дослідити, чи залежить мітохондріальне окиснення етанолу *in vitro* від наявності в середовищі різних субстратів окиснення.

Дослідження проводили на щурах (самцях) лінії Вістар масою 220–250 г. Ізолування гепатоцитів здійснювали двостадійним методом Сеглена. Цілісність плазматичних мембран гепатоцитів оцінювали фарбуванням клітин 0,1 % розчином трипанового синього. Швидкість споживання кисню ізольованими гепатоцитами визначали полярографічним методом. Гепатоцити інкубували протягом 60 хв з етанолом (50 мМ) у середовищі з глюкозою (10 ммоль/л) з чи без субстратів окиснення (піруват чи монометилсукцинат, по 2 ммоль/л). Після цього гепатоцити вносили у полярографічну комірку та для визначення швидкості FCCP-стимульованого дихання додавали протоніфор у наростаючих концентраціях – до 0,25, 0,5 і 1 мкмоль/л. Вірогідність змін визначали, використовуючи t-тест Стьюдента і двофакторний дисперсійний аналіз.

Встановлено, що етанол не впливав на базальне дихання гепатоцитів за окиснення глюкози, монометилсукцинату чи пірувату на тлі глюкози, отже, мітохондріальне окиснення етанолу гепатоцитами за таких умов є несуттєвим. Однак етанол на 12 % підвищував максимальне FCCP-стимульоване дихання за окиснення глюкози (t-тест), що свідчить про залучення етанолу як субстрату окиснення за таких умов. Етанол жодним чином не впливав на максимальне роз'єднане дихання за наявності пірувату й монометилсукцинату, які самі по собі значно підвищували це дихання. Двофакторний дисперсійний аналіз не підтвердив ефекту етанолу, а лише значний вплив субстрату окиснення на швидкість дихання.

Таким чином, збільшення мітохондріального окиснення етанолу гепатоцитами, ймовірно, відбувається лише за умов роз'єднання дихання й окисного фосфорилування та за відсутності надлишку субстратів циклу Кребса, однак ця гіпотеза потребує додаткової експериментальної перевірки.

**Гарлінська Е.В.<sup>1</sup>, Ляшенко В.П.<sup>1</sup>, Мізін В.В.<sup>2</sup>**

**ДИНАМІКА РІВНЯ ДГЕА-С У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ В ПЕРІОДІ СТАРЕЧИХ ЗМІН**

<sup>1</sup>Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
просп. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49010, Україна

<sup>2</sup>Придніпровська державна академія фізичної культури і спорту  
вул. Набережна Перемоги, 10, м. Дніпро, 49000, Україна  
garlinskaya.elya@gmail.com

**Harlinska E., Liashenko V., Mizin V. DYNAMICS OF THE LEVEL OF DHEA-S IN RATS OF DIFFERENT SEXES IN THE PERIOD OF SENILE CHANGES** Investigated the level of dehydroepiandrosterone in rats of different sexes of the period of senile changes. It was found that in the first group of rats of preterm age of the period of senile changes, the level of DHEA was significantly higher than in groups II and III. Hormone indicators of females at this period has decrease, while in males it became lower, and then in the extremely old age probably increase.

Дегідроепіандростерон-сульфат (ДГЕА-С) є природним антиглюкокортикоїдом і гормоном, чутливим до дії зовнішніх чинників. Дослідники часто використовують рівень ДГЕА-С як маркер метаболічних зсувів. Також вікові зміни рівня гормонів залежать від статі. Тому в дослідженні ми визначали динаміку рівня цього гормону у щурів старечого періоду різної статі. Експерименти були проведені на нелінійних безпородних білих щурах різної статі. Для дослідження тварини були розподілені за статтю та за віком: I група – щури передстаречого віку періоду старечих змін; II група – старечого віку періоду старечих змін; III – гранично старого віку періоду старечих змін. Визначення рівня ДГЕА-С виконували електро-хемілюмінесцентним методом на аналізаторі Elecsys 2010 від компанії Roche (Швейцарія). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Origin 6.0 Professional методом парних порівнянь і кореляційного аналізу.

У результаті наших дослідів встановлено, що рівень дегідроепіандростерон-сульфату у щурів-самців передстаречого віку періоду старечих змін становив  $233,69 \pm 11,14$  нмоль/л. У групі щурів старечого віку періоду старечих змін цей показник вірогідно нижчий у 9,84 разу порівняно з ювенільною групою. Вірогідно в 4,2 разу нижчий рівень ДГЕА-С у самців гранично старого віку порівняно зі самцями передстаречого віку. У самців гранично старечого віку цей показник вірогідно більший у 2,34 разу щодо самців старечого віку.

Визначили рівень ДГЕА-С у сироватці крові самиць передстаречого віку, він дорівнював  $389,6 \pm 13,1$  нмоль/л. У самок старечого віку цей показник вірогідно в 7,81 разу менший порівняно з показниками самиць передстаречого віку. Рівень ДГЕА-С у самок гранично старого віку вірогідно в 9,52 разу менший за показники самок передстаречого віку. У щурів старечого та гранично старого віку рівень гормону вірогідно збільшився в 1,21 разу.

Порівнявши рівень ДГЕА-С в сироватці крові самців і самок щурів, ми отримали вірогідні відмінності. Рівень гормону в самців передстаречого віку був у 1,66 разу вірогідно більший, ніж у самок такого віку. У

самців старечого віку періоду старечих змін порівняно зі самками рівень ДГЕА-С вірогідно менший у 2,09 разу, а в гранично старому віці – у 1,36 разу вірогідно більший щодо самиць цього віку.

Тобто в старечому періоді у щурів різної статі спостерігали такі особливості: у самиць старечого віку рівень ДГЕА-С був вірогідно вищий щодо самців, а у гранично старому віці, навпаки, рівень гормону вищий у самців, ніж у самок.

Таким чином, отримані в ході досліджень дані вказують на наявність статевих і онтогенетичних відмінностей рівня дегідроепіандростерон-сульфату в сироватці крові щурів. Зниження з віком рівня ДГЕА-С може бути внаслідок перерозподілу синтезу холестеролу та підвищення з віком внутрішньоклітинного холестерину, що викликає зниження синтезу холестеролу та стероїдних гормонів (Goncharov NP, et all, 2015, Kamin H.S. et all, 2017, ).

У самців передстаречого віку періоду старечих змін рівень даного гормону вірогідно вищий, ніж у самок такого віку. Можливо, це пов'язано з підвищення рівня цАМФ (Beishuizen A., Groeneveld A.B., Nawata H., Yanase T., Goto K. et all).

Тобто з віком знижується рівень адаптаційних і пристосувальних механізмів, а також метаболічних процесів, унаслідок чого організм стає вразливішим до негативних чинників.

**Безніс Т.А.**

**ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ СТУДЕНТІВ  
РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП У ПЕРІОДИ ОСІННЬОГО І ВЕСНЯНОГО СЕМЕСТРІВ**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
missis.taisiyabeznis19@gmail.com*

**Beznis T. A. DYNAMICS OF INDICATORS OF PSYCHOPHYSIOLOGICAL STATE OF STUDENTS OF DIFFERENT AGE GROUPS IN THE PERIODS OF AUTUMN AND SPRING SEMESTERS.** It is shown: according to the results of the study of consistent psychophysiological indicators the majority of surveyed students in the 1st and 4th year have a choleric type of temperament and a chronotype-owl. Among the students of both courses the visual type of perception of sensory information dominates. When examining more labile psycho-physiological indicators (perception of time and rate of switching attention), differences between students of junior and senior students were identified. The freshmen in the three study periods of the subjective minute and the rate of switching attention have not significantly changed. And in the majority of fourth-year students in the second pre-session period there was a slowdown in the perception of time, indicating an increase in the level of anxiety and a tendency to reduce the rate of switching attention. This indicates a slowdown in these students' memory processes and a decrease in the effectiveness of assimilation of information.

Проблема вивчення особливостей адаптації здобувачів вищої освіти до змін в організації навчального процесу ЗВО України є актуальною. У студентів молодших курсів, яким слід якомога швидше й ефективніше адаптуватися до умов, відмінних від середніх навчальних закладів, відбуваються перебудови у характері сприйняття наукової і навчальної інформації. Студенти старших курсів, більш адаптовані до освітнього процесу, стикаються теж із низкою об'єктивних проблем. Зокрема, частина з них паралельно з навчальною діяльністю працюють.

Дослідження проведено на біологічному факультеті протягом 2018-2019 навчального року у три періоди: у перший передсесійний період ( грудень 2018 р.), міжсесійний (березень 2019 р.) і другий передсесійний (травень 2019 р.). Загальна кількість обстежених - 44 особи (по 22 у кожній віковій групі), переважно жіночої статі. Вік першокурсників - 18-19 років, четвертокурсників - 21-23 роки. В обстеженні використовували такі психофізіологічні методи дослідження: визначення типу темпераменту за Г.Айзенком, хронотипу за тестом Хорна-Остберга, типу сприйняття сенсорної інформації, сприйняття часу (тест «Суб'єктивна хвилина»), переключення уваги за тестом Горбова-Шульте і статистичний метод.

За результатами дослідження сталих психофізіологічних показників встановлено, що більшість обстежених студентів 1 і 4 курсів мали холеричний тип темпераменту (42 і 58 % відповідно) та хронотип «сови» (42 і 75 %). У студентів обох курсів переважав візуальний тип сприйняття сенсорної інформації.

Дослідження лабільніших психофізіологічних показників (сприйняття часу, швидкість переключення уваги) показали відмінності між першокурсниками та четвертокурсниками.

У студентів 1 курсу показники суб'єктивної хвилини переключення уваги достовірно не змінювалися в міжсесійний і кожен із передсесійних періодів.

У студентів 4 курсу у другому передсесійному періоді спостерігали сповільнення сприйняття часу. Це показник збільшення рівня тривоги. Аналіз динаміки показника переключення уваги виявив тенденцію до зменшення швидкості переключення уваги. Це свідчить про уповільнення процесів пам'яті та зниження ефективності засвоєння інформації.

*Науковий керівник – к.б.н., доцент кафедри фізіології людини та тварин ХНУ імені В.Н.Каразіна  
Мартиненко В.В.*

**Високосова А.****ОСОБЛИВОСТІ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ПОЛЯРНИКІВ  
ПІД ВПЛИВОМ ЗАГАЛЬНОГО КОРОТКОЧАСНОГО ПОВІТРЯНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
alona.vysokosova@gmail.com*

**Vysokosova A. FEATURES OF THE HEART RATE VARIABILITY OF POLAR EXPLORERS UNDER THE INFLUENCE OF GENERAL AIR SHORT-TERM COOLING.** This paper presents the results of a study of the short-term cold loads effect on adaptation processes of polar explorers. The data of heart rate variability before and after the procedure in the cryochamber at  $-68 - -70$  °C were analyzed. The results have shown that short-term cold loading improves the adaptation process of polar explorers preparing for wintering at the Academic Vernadsky station.

Під час полярної експедиції дослідники перебувають в екстремальних умовах протягом тривалого періоду часу. Для зменшення шкідливого впливу стресу на організм людини протягом зимівлі дослідникам слід пройти процедури преадаптації. Ефективність цих процедур досліджували за допомогою аналізу варіабельності серцевого ритму (BCP) під час функціональних тестів до та після впливу в кріокамері, в період до та після зимівлі.

Найчастіше процедура загальної повітряної кріотерапії полягає у перебуванні пацієнта в закритій камері зі сухим повітряним середовищем за температур до  $-120$  °C (Бабійчук, 2007, Агаджанян, 2012). Для тренування використовували кріокамеру за температури  $-68- -70$  °C протягом 3 хв. Об'єктом дослідження були регуляторні системи серцевої діяльності полярників, які готувалися до зимівлі на станції Академік Вернадський. Процедури від першої до п'ятої були референтними. Обробку результатів BCP проводили відповідно до галузевих стандартів з використанням електрокартографічного комплексу CardioLab. До та після кріокамери за протоколом активного ортостатичного тесту проводили вимірювання основних показників BCP: PAPR (параметр адекватності регуляторних процесів), показники спектрального аналізу, високої частоти (HF), низької частоти (LF) і компоненти дуже низької частоти (VLF відповідно), TP (Загальна потужність спектра), PARS (параметр активності регуляторних систем).

Показано, що для полярників, порівняно з умовно здоровими пацієнтами (Бабійчук та ін., 2019), адаптація до холодних навантажень у кріокамері має двоступеневу реакцію на короткочасну гіпотермію. Ефект проявляється як на рівні загальних показників діяльності регуляторних систем серцевої діяльності, так і на рівні перерозподілу самих регуляторних механізмів.

Стратегія реагування регуляторних систем серця полярників на кріогенні процедури після відвідування станції Академік Вернадський також змінилася. Якщо до кріогенних тренувань і зимівлі реакція на функціональні навантаження була зумовлена гормональною системою, то після зимівлі – парасимпатичною нервовою системою.

Кріогенні тренування зумовлюють підвищення адаптивності регуляторних систем у полярників під впливом холоду. Для того, щоб підвищити пристосованість полярників до зимівлі, варто використовувати попередню преадаптацію їх у кріокамері.

**Горбань Д., Горна О.****ВИВЧЕННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ТКАНИННОГО КРОВОТОКУ ЗА ІШЕМІЇ У СТУДЕНТІВ**

*Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького  
вул. Гетьманська, 20, м. Мелітополь, 72312, Україна  
dashadaf@yandex.ua*

**Horban D., Gorna O. RESEARCH OF RESISTANCE STUDENTS' TISSUE BLOOD FLOW IN ISCHEMIA.** The experimental research consisted of the study of blood microcirculation functional state by means of Laser Doppler flowmetry (LDF) method. Resistance people whom researched tissue blood flow on occlusion test depended on various types of blood microcirculation. Resistance students' tissue blood flow was the greatest at students with hypoemics' type, at students with hyperemics' and normoemics' types of blood microcirculation was much lower.

За даними ВООЗ, погіршення умов життя і зниження стабільності у суспільстві обумовлюють зростання стресових станів у популяції молодих людей більше, ніж у інших категорій, що призводить до зростання захворюваності у цій віковій групі. Тому збереження і зміцнення здоров'я молоді у даний час набуває більшої значущості.

Мета дослідження – виявити зміну показників тканинного кровотоку у студентів під час оклюзійної проби.

У ході дослідження взяли участь 192 практично здорових студенти-добровольці МДПУ імені Богдана Хмельницького (157 дівчат і 35 юнаків) 17-22 років. Дослідження проводили відповідно до сучасних вимог біоетики.

Під час дослідження використовували метод лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ) (Козлов, 2012) для вивчення функціонального стану мікроциркуляції крові.

ЛДФ здійснювали лазерним аналізатором кровотоку «ЛАКК-01» з лазерним джерелом випромінювання на довжині хвилі 0,63 мкм.

Вивчаючи індивідуально-типологічні особливості мікроциркуляції крові під час проведення запису ЛДФ-грам у студентів 17-22 років, параметр мікроциркуляції (ПМ) тканинного кровотоку в середньому становив  $11,67 \pm 4,4$  перф. од., рівень коливань тканинного кровотоку (СКВ) -  $2,03 \pm 0,39$  перф. од., коефіцієнт варіації (Кв) у середньому мав значення  $23,39 \pm 5,71$ . У обстежених студентів виявлено три типи ЛДФ-грам, які відповідають різним типам мікроциркуляції крові.

У ході проведення оклюзійної проби в обстежених спочатку здійснювали запис вихідного рівня кровотоку. Під час оклюзії шляхом стискання на 1-3 хв ділянки плеча манжетою тонометра спостерігалось різке зниження параметра мікроциркуляції. Це пояснюється відтоком крові зі судин мікроциркуляції. Після закінчення оклюзії повітря з манжети швидко випускали, і протягом подальших 3-5 хв реєстрували реакцію параметра мікроциркуляції у ході відновлення кровотоку. У період відновлення реєстрували більшу амплітуду вазомоції, ніж у стані спокою.

Під час дослідження індивідуально-типологічних особливостей мікроциркуляції крові у студентів-добровольців 17-22 років провели оцінку функціональних резервів системи мікросудин. Резистентність капілярного кровотоку (РКК) на оклюзійну пробу в обстежених осіб залежала від різних типів мікроциркуляції крові. Так, результати дослідження показали, що найбільший функціональний резерв був у студентів із гіпоемічним типом мікроциркуляції крові ( $415,65 \pm 15,56$  %). Це пояснюється тим, що за гіпоемічного типу мікроциркуляції початкові значення параметра мікроциркуляції (ПМ) мають низький рівень, порівняно з іншими типами мікроциркуляції крові. У групі обстежених із нормоемічним типом мікроциркуляції крові функціональні можливості мікроциркуляторного русла були знижені ( $322,53 \pm 11,23$  %). У студентів із гіперемічним типом мікроциркуляції крові були ще менші показники функціональних резервів ( $174,22 \pm 15,91$  %). Це пояснюється тим, що функціональні резерви системи обмежені високим вихідним рівнем тканинного кровотоку.

Ці відмінності обумовлені станом нейрогенної регуляції, яка забезпечує необхідний рівень тонуусу мікросудин, і особливостями кровотоку в мікроциркуляторному руслі.

**Деркачов В., Березовський В., Дмитрів Т., Стрілець Н., Лилик М.**

**ВПЛИВ ВОДНИХ ВІДВАРІВ ІЗ КВІТІВ РОМАШКИ ТА МАРГАРИНУ  
НА СПОЖИВАННЯ ЇЖІ ТА РУХОВУ АКТИВНІСТЬ У *DROSOPHILA MELANOGASTER***

ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»  
вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76018, Україна  
derkachovvitalii@gmail.com

**Derkachov V., Berezovskyi V., Dmytriv T., Strilets N., Lylyk M.** EFFECTS OF WATER EXTRACTS FROM *MATRICARIA CHAMOMILLA* FLOWERS ON FOOD INTAKE AND CLIMBING ACTIVITY IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*. In this work, we studied the effects of high margarine diet and water extracts from *Matricaria chamomilla* flowers on the food intake and climbing activity in adult *Drosophila melanogaster* flies. Food composition had no effects on intensity of food consumption but affected locomotor behavior of flies. Females but not males fed 10 % margarine had lower climbing activity than control ones and it was improved by addition of water extracts from *M. chamomilla*.

Споживання висококалорійної їжі у плодової мушки *Drosophila melanogaster* індукує низку метаболічних і фізіологічних змін, зокрема, розвиток ожиріння, зміни у харчовій поведінці та здатності реагувати на стрес. На плодовій мушці також тестують різні підходи для уникнення небажаних змін, зумовлених переїданням (Bayliaketal., 2019). Нещодавно було показано, що флавоноїд апігенін і його глікозиди можуть запобігати метаболічним порушенням (Gentileetal., 2018). На ці речовини багаті квіти ромашки лікарської (Wang, 2019). Тому в роботі ми дослідили вплив високого вмісту в їжі гідрогенізованої рослинної олії (маргарину), доданої окремо й у суміші з водним відваром із квітів ромашки лікарської, на інтенсивність споживання їжі та індуковану рухову активність дорослих особин плодової мушки.

У роботі використовували *D. Melanogaster* лінії  $w^{1118}$ . Мух вирощували зі стадії яйця на середовищах, які містили 5 % сухих дріжджів, 5 % сахарози, 1 % агару, 1 % Tween-20 і 0,18 % ніпагіну. Це середовище використано як контрольне. Додатково у середовище вносили 10 % маргарину та водний відвар із квітів ромашки лікарської (в цьому випадку воду для приготування середовища заміняли водним відваром з квітів ромашки). Для отримання водних відварів рослинну сировину (аптечний препарат) заливали кип'яченою водою у співвідношенні 1:30 та кип'ятили протягом 5 хв з наступним фільтруванням. Після того, як із лялечок вилуплювалися дорослі мухи, їх пересажували на середовища того самого складу й утримували на них до досягнення ними семиденного віку. Заміну середовищ здійснювали через кожних 2-3 дні. Семиденних мух розділяли за статтю. Індуковану рухову активність мух визначали за здатністю їх до негативного геотаксису, реєструючи кількість комах у групі, які долали 5 см вгору за 20 с після струшування. Інтенсивність споживання їжі мухами визначали за кількістю спожитого разом із їжею харчового барвника діамантового синього. Для цього мух переносили на живильні середовища відповідного складу з додаванням харчового барвника й утримували протягом 30 хв.



Інтенсивність споживання їжі мухами була подібною на всіх живильних середовищах; знайдено лише статеві відмінності: самки споживали більшу кількість їжі, ніж відповідні самці. Самці, вирощені на маргарині та на суміші «маргарин + ромашка», не відрізнялися від контрольних за індукованою руховою активністю. Самки, вирощені на маргарині, мали нижчу рухову активність, ніж контрольні. Проте самки, вирощені на суміші «маргарин + ромашка», не відрізнялися від контрольних за руховою активністю. Варто зазначити, що вирощування на базовому середовищі з додаванням відвару з квітів ромашки знижувало рухову активність як самців, так і самок.

Отже, додавання маргарину та ромашки до їжі не впливає на інтенсивність споживання їжі мухами, проте модулює рухову поведінку мух із більш вираженим ефектом у самок.

**Діденко О., Калиновський В., Пустовалов А., Держинський М.**

#### ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА НА СТАН ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ

*Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»*

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна*

*didenkoelena69@gmail.com*

**Didenko O., Kalynovskyi V., Pustovalov A., Dzerzhynskiy M.** EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON THE RAT PROSTATE GLAND. We investigated the changes in prostate gland of rats after the intraperitoneal administration of silver nanoparticles. Injections of nanomaterials resulted in propagation of adverse effects, such as local degeneration of epithelial tissue and development of inflammatory processes. Simultaneously, plasma testosterone levels decreased, which may have contributed to the dysregulation and downregulation of the gland. At the same time, the gland maintained its ability to respond to central stimulatory and inhibitory stimuli.

Наночастинки срібла широко використовують у різних галузях медицини, науки та промисловості. Також активно розробляють підходи у використанні наноструктур як протипухлинних агентів і засобів біовізуалізації. Водночас нанотоксикологічні дослідження проводять зазвичай на об'єктах *in vitro*, що обмежує потенціал використання наноматеріалів як компонентів лікувальних засобів. Тому наше дослідження було спрямоване на оцінку структурно-функціональних змін у тканині передміхурової залози щурів за дії наночастинок срібла.

Дослідження проводили на самцях білих нелінійних щурів віком 6 місяців (n=36). Наночастинки срібла (8-12 мкм) вводили інтраперитонеально, у дозі 0,1 мг на 100 г маси тіла тварини, упродовж 10 діб. Для моделювання різних функціональних станів активності статевої системи на 8-10 доби щурам інтрацеребровентрикулярно вводили кіспептин-10 або його антагоніст. На останню добу експерименту тварин декапітували та відбирали передміхурову залозу, яку фіксували у суміші Буена й обробляли за загальноприйнятими методиками. На гістологічних препаратах оцінювали морфологічний стан тканини залози та відносний об'єм епітеліальної тканини. Також у плазмі крові тварин визначали вміст тестостерону за допомогою імуноферментного аналізу. Відмінності між груповими параметрами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента й U-критерію Манна-Вітні.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що за дії наночастинок срібла в передміхуровій залозі спостерігався розвиток запальних процесів, локальна дегенерація епітелію, поява еозинофільних кристалічних утворень у просвіті ацинусів і розростання сполучнотканинної строми. Під час цього зберігалася здатність залози відповідати на кіспептин-опосередковану центральну стимуляцію.

Дія наноматеріалів призводила також до достовірного зниження вмісту тестостерону в плазмі крові. При цьому введення наночастинок не впливало на характер змін цього параметру за центральної активації або пригнічення кіспептинергічної сигналізації.

Таким чином, ми виявили токсичний вплив наночастинок срібла на передміхурову залозу статевозрілих щурів. Введення наночастинок срібла призвело до появи патологічних змін гістологічної організації простати, активації запальних процесів з одночасним пригніченням функціональної активності передміхурової залози, що може бути результатом як безпосереднього пошкоджувального впливу наноматеріалів на клітини залози, так і опосередковано - змінами вмісту тестостерону в плазмі крові. Водночас сумісні введення наноматеріалів і кіспептину зумовлювали активацію залози навіть за наявності структурних аномалій, що може бути пов'язане зі сенситизацією простати на тлі пригнічувальної дії наночастинок срібла.

**Єрмоєнко Д.**

#### ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ КОФЕЇНУ НА МІНЛИВІСТЬ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ЛЮДИНИ

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна*

*Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна*

*eriyomenko.dash@gmail.com*

**Yeromenko D.** CHARACTERISTICS OF THE EFFECTS OF CAFFEIN ON THE VARIABILITY OF HUMAN HEART RHYTHM. Investigated the effect of coffee beverages on cardiovascular regulatory activity. The effect of hot coffee is due to two factors: the temperature of the drink and the caffeine content, and under the influence of hot water increases the activity of the nervous regulatory systems of the heart and inhibits the activity of the humoral system.

Немає єдиного висновку, яким чином кава впливає на пристосованість регуляторних механізмів серцево-судинної системи. Крім того, немає кількісних характеристик впливу кофеїну на нервову та гуморальну системи (Umemura, 2006).

Робота присвячена вивченню впливу кавових напоїв на діяльність регуляторних систем серцевої діяльності. Мета дослідження - з'ясувати кількісні характеристики впливу розчинного та натурального кавового напою на активність і адаптованість регуляторних механізмів серцево-судинної системи.

Дослідження проводили на 20 студентах віком від 18 до 25 років у лабораторії електрофізіологічних досліджень кафедри фізіології людини та тварин на електрокардіографі CardioLAB, ХАІ-МЕДИКА. У суб'єктів експерименту з їхньої письмової згоди вимірювали значення ВСР (варіабельність серцевого ритму) у спокійному стані (фоновий тест). Потім ті ж вимірювання проводили після споживання 100 г води за температури 40-60 °С. Після спокою (7-10 хв) проводили повторне фонове тестування. Згодом учасник експерименту випивав або розчинну, або натуральну каву (вимірювання проводили в різні дні експерименту). Показники ВСР вимірювали ортостатичним тестом (Робоча група кардіологів, 1999).

Розчинна кава – це напій із розчинної кави «Якобз», що містить не менше 2,3 % кофеїну; 1,1 г розчинної кави містить 0,253 г кофеїну, на який було дано 100 г води; температура кавового напою 40-50 °С.

Натуральна кава – це напій із натуральної меленої кави «Львівська кава». У середньому в сортах робуста міститься 3 % чистого кофеїну, в арабіці – 2 %. Оскільки у «Львівській каві» частка сортів становить 50/50, то орієнтовна кількість чистого кофеїну в цій суміші - 2,5 %. Під час приготування цього виду напою використано 1,5 г натуральної кави. Каву додавали у киплячу воду (ємністю 100 г), доводили до кипіння і витримували за кімнатної температури для охолодження до 40-50 °С.

Під час обробки даних до уваги брали показники: індекс напруженості ( $IN(S_i)$ ), показник адекватності процесів регуляції (ПАПР), загальну потужність спектра (TP), високочастотні коливання (HF), низькочастотні коливання серцевого ритму (LF), дуже низькочастотні коливання (VLF). Обробку даних проводили у програмі OriginPro.

На підставі одержаних результатів зроблено відповідні висновки. Вплив гарячого кавового напою на регуляторні системи серця обумовлений двома факторами: температурою напою та концентрацією кофеїну. Під впливом гарячої води зростає активність нервової регуляторної системи серця та пригнічується активність гуморальної системи. Пригнічення симпатичної ланки регуляції серця має зворотну залежність від концентрації кофеїну. Збільшення концентрації кофеїну в кавовому напої знижує ефект гарячої води як на рівні парасимпатичної регуляції, так і на рівні загального показника напруженості вегетативної регуляції  $IN(S_i)$ .

**Мельник Р., Сарабун В., Гренюх В., Іккерт О., Бабський А.**

#### ВПЛИВ ПОХІДНОГО ПІРАЗОЛОПІРИМІДИНУ НА МАСУ І ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ МИШЕЙ ІЗ ЛІМФОМОЮ NK/LY

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
melnykroksolana98@gmail.com*

**Melnyk R., Sarabun V., Hreniukh V., Ikkert O., Babsky A.** INFLUENCE OF THE PYRAZOLOPYRIMIDINE DERIVATIVE ON WEIGHT AND LIFE DURATION OF MICE WITH NK/LY LYMPHOMA The effect of the newly synthesized thiazole derivative on the mice with Nemeth-Kelner lymphoma (NK/Ly) was investigated. Mice received the synthesized thiazole at various concentrations (5, 10 and 15 mg/kg of live weight). All tumor carriers had a significant increase in weight compared to the control. The injection of the derivateive did not cause statistical changes in the weight or duration of the mice.

Онкологічні захворювання займають друге місце у світі серед причин смертності населення після серцево-судинних захворювань. У зв'язку з цим відбувається інтенсивний пошук нових ефективних протипухлинних препаратів (Finiuk et al., 2017). Перспективною групою речовин із широким спектром дії є похідні тiazолів, які виявляють протибактерійну, противірусну й антидепресивну активність (Туров та ін., 2012).

Особливий інтерес становлять похідні піразолопіримідину як потенційні протипухлинні препарати. Наявні у їхній структурі тiazольні та гетероцикли можуть визначати цитотоксичні властивості речовин і їхню специфічність (LeBleu et al., 2014). Попередньо встановлено виражену цитотоксичну дію новосинтезованих похідних тiazолу на окремі лінії пухлинних клітин [Finiuk, 2017, 2018].

Мета роботи - дослідити вплив похідного тiazолу (8-метил-2-Ме-7-[трифлюорометил-фенілметил] піразоло[4,3-е][1,3]тіазоло[3,2-а]піримідин-4(2H)-ону на виживання та зміни маси мишей із лімфомою NK/Ly.

Дослідження проводили на нелінійних мишах-самцях масою 20-30 г із прищепленою лімфомою NK/Ly. Миші було розділено на 5 груп, які утримували у 2 клітках із рівномірним представленням особин кожної групи. Асцитну форму лімфоми прищеплювали методом внутрішньочеревної інокуляції. На наступний день після інокуляції мишам-пухлиноносцям починали вводити внутрішньочеревно розчин речовини у кінцевих концентраціях 5, 10 чи 15 мг/кг живої маси. Введення розчину тривало протягом 20 днів. Речовину чи воду для ін'єкцій вводили щодругий день у об'ємі 200 мкл. Протягом експерименту щоденно вимірювали масу кожної особини. На підставі цих даних розраховували середню тривалість життя миші у кожній групі й усереднені зміни нормалізованої маси протягом експерименту. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з

використанням програми MS Excel. Для оцінки достовірності обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважали різницю між групами даних з  $P \geq 0,05$ .

У результаті було виявлено, що у мишей групи 1 (контроль) протягом експерименту маса рівномірно коливалась у межах 100-105 % від маси до початку експерименту. У мишей 2 групи (лімфома) маса зростала з 98 до 126 % (10 день), 147 % (20 день) і 153 % (27 день). У мишей 3 групи (лімфома+5 мг/кг речовини) маса зростала з 99 до 140 % (10 день) і 152 % (17 день). У мишей 4 групи (лімфома+10 мг/кг речовини) маса зростала зі 100 до 130 % (10 день), 158 % (20 день) і 160 % (21 день). У мишей 5 групи (лімфома+15 мг/кг речовини) маса зростала зі 100 до 140 % (10 день) і 144 % (19 день). У результаті тривалість життя мишей у кожній групі становила 28, 19,5±1,8, 16±0,7, 16,6±1,5 та 18,25±0,5 днів.

Отже, введення досліджуваної речовини мишам-пухлиноносцям *in vivo* не спричиняло змін маси чи тривалості життя порівняно з контрольною групою мишей-пухлиноносців.

**Сударенко Ю., Наглов О.В.**

**БІОЕЛЕКТРИЧНА АКТИВНІСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЛЮДИНИ І КОНЯ  
ПІД ЧАС ЗАНЯТЬ ВЕРХОВОЮ ЇЗДОЮ**

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61000, Україна  
sudarenko.julia@gmail.com*

**Sudarenko Y., Nahlov O. BIOELECTRIC ACTIVITY OF HUMAN AND HORSE BRAIN IN HORSE RIDING.** The positive impact of horse riding on the human body has long been known. But there is no data on the effect of riding on the bioelectric activity of human and horse brain. This paper investigated bioelectrical brain rhythms horses and humans before and after horse riding by the method of electroencephalography. The experiment involved 5 sports pairs of "human-horse".

У наш час дедалі більше людей захоплюються верховою їздою та кінним спортом. Відомо багато фактів про користь таких занять для людини (Савельєва, 2019; Ашкова, 2018), та немає даних про ефект, який справляє верхова їзда на біоелектричну активність головного мозку людини і коня. А для покращення взаємодії людини з конем, наприклад, у спорті, дуже важливим є розуміння реакцій нервової системи кожного з учасників цієї взаємодії.

У даній роботі досліджували біоелектричні ритми головного мозку коня і людини до й після занять верховою їздою за допомогою методу електроенцефалографії (за стандартною схемою накладання електродів на приладі «Нейроком ХАІ-medica»).

Є дані, що підтверджують відповідність ритмів головного мозку людини та коня (Іполітова, 2012), тому порівняння й інтерпретація їх були можливими. В експерименті брали участь 5 пар «людина - кінь». Вершниками були спортсмени Дергачівської дитячо-юнацької кінноспортивної школи. Вік людей - 18-24 роки, коней - 4-16 років. Усі коні української верхової породи. Заняття проводили упродовж 40 хв за однаковою схемою (розминка 10 хв, основна робота 20 хв і крокова робота 10 хв). Окремо фіксували активність мозку коней до та після роботи на корді без вершника на спині. Дані були усереднені після розрахунку зміни індексу ритмів і коефіцієнта асиметрії щодо показників до початку роботи.

Результати показали, що під час занять верховою їздою у людей підвищується індекс  $\delta$ -ритму (217,15 %), а індекси інших ритмів знижуються:  $\theta$ -ритм - 72,15 %,  $\alpha$ -ритм - 96,64 %,  $\beta$ -ритм - 91,44 %. Коефіцієнт асиметрії підвищується за всіма ритмами:  $\delta$ -ритм - 321,24 %,  $\theta$ -ритм - 194,26 %,  $\alpha$ -ритм - 186,67 %,  $\beta$ -ритм - 173,31 %. Що стосується коней, то під час роботи з людиною в них індекс  $\delta$ -ритму, навпаки, знижується (94,44 %), а інші суттєво підвищуються:  $\theta$ -ритм - 379,98 %,  $\alpha$ -ритм - 351,05 %,  $\beta$ -ритм - 351,48 %. Під час роботи на корді без вершника у коней реєструються такі показники: індекс  $\delta$ -ритму - 91,40 %,  $\theta$ -ритму - 435,15 %,  $\alpha$ -ритму - 509,34 %,  $\beta$ -ритму - 320,02 %.

На основі отриманих даних можна сказати, що у зв'язку зі зниженням індексів  $\alpha$  та  $\beta$ -ритмів у людей верхова їзда має для них заспокійливий характер. У коней реєструється суттєве підвищення цих ритмів через інтенсивне фізичне навантаження.

Якщо порівнювати роботу коня з вершником і без нього, то коефіцієнт асиметрії в першому випадку підвищується більше. Це свідчить, що людина має вплив на мозкову діяльність коня, коли ставить перед ним різноманітні завдання.

**Стрілець Н., Дмитрів Т., Лилик М., Байляк М.**

**ВПЛИВ ТВАРИННОГО ТА РОСЛИННОГО ЖИРУ  
НА НАКОПИЧЕННЯ ЗАПАСНИХ ЛІПІДІВ У ПЛОДОВОЇ МУШКИ**

*ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»  
буль. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76018, Україна  
nadiastrilets19@gmail.com*

**Strilets N., Dmytriv T., Lylyk M., Bayliak M. INFLUENCE OF ANIMAL AND PLANT FATS ON STORAGE LIPID ACUMULATION IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*.** In this work, we studied the ability of high fat diets based on lard or margarine to induce accumulation of storage lipids, triglycerides (TAG), in *Drosophila melanogaster*

adults. Rearing on 10 % lard increased TAG levels only in one-week-old females, while 10 % margarine induced higher TAG levels in both sexes with more expressed effects in females. High fat diets had slight effects on climbing activity but increased starvation resistance of flies.

Миші та щури вважаються найкращими моделями для дослідження ожиріння та метаболічних порушень. Останніми роками активно почали використовувати альтернативні моделі, зокрема плодова мушка *Drosophila melanogaster* (Bayliak et al., 2019). Споживаючи висококалорійну їжу, плодова мушка, як і ссавці, надлишок поживи зберігає у формі запасних триацилгліцеридів. Склад експериментальних живильних середовищ важливий для дослідження *D. melanogaster* на ожиріння, викликане переїданням.

Мета цієї роботи - дослідити, як впливає високий вміст у їжі тваринного жиру (смазьцю) та гідрогенізованої рослинної олії (маргарину) на рівень запасних жирів і на деякі фізіологічні показники у плодової мушки.

У роботі використовували стандартну лінію *D. melanogaster* <sup>w<sup>1118</sup></sup> (мухи білоокі, оскільки мають дефект за геном *white*). Мух вирощували зі стадії яйця на середовищах, які містили незмінні компоненти (5 % сухих дріжджів, 5 % сахарози, 1 % агару, 1 % Tween-20 та 0,18 % ніпагіну; це середовище використано як контрольне) та змінні компоненти: 1) 10 % тваринного жиру (смазьцю), 2) 10 % маргарину, 3) 20 % маргарину. Після того, як із лялечок вилуплювалися дорослі мухи, їх пересажували на середовища того самого складу й утримували до досягнення 7-денного віку. Заміну середовищ здійснювали через кожних 2-3 дні. Семиденних імаго розділяли за статтю шляхом анестезування вуглекислим газом. Частина мух використовували для фізіологічних тестів (стійкість до голодування, рухова активність), а іншу частину – заморожували та використовували для визначення вмісту запасних триацилгліцеридів (ТАГ). Для визначення вмісту ТАГ застосовували діагностичний набір фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Вирощування мух на середовищі, яке містило 10 % смазьцю, зумовлювало вищий вміст ТАГ лише у самок (на 35 %), тоді як у самців вміст ТАГ був подібним до такого у контрольних самців. Мухи обох статей, вирощені на середовищі за 10 % маргарину, мали вищий вміст ТАГ (самці на 22 % і самки на 50 %), ніж контрольні особини. Вміст ТАГ у мух, утримуваних на середовищі з 20 % маргарину, не відрізнявся від такого у мух, які споживали їжу з 10 % маргарину. Ні споживання смазьцю, ні споживання маргарину не впливало на індуковану рухову активність самців; самки, вирощені на маргарині, мали достовірно нижчу рухову активність, тоді як у самок, вирощених на смазьці, відмічали тільки тенденцію до зниження рухової активності порівняно з контрольними самками. Самці та самки, вирощені на 10 % і 20 % маргарину, були стійкішими до голодування, ніж контрольні особини. У самців виживання за умов голодування не залежало від концентрації маргарину, а у самок краще виживали ті, які утримувалися на 20 % маргарину.

Отримані результати свідчать про те, що маргарин сприяє накопиченню більшої кількості запасних жирів у плодової мушки, ніж смалець.

Самки плодової мушки накопичують більші кількості ТАГ, ніж самці, тому, ймовірно, їх доцільніше використовувати у тестуваннях дрозофільної моделі ожиріння.

**Стойко А.-М., Гіркова С., Гренюх В., Іккерт О., Бабський А.**

**ВПЛИВ ПОХІДНОГО БЕНЗОФУРАНУ  
НА МАСУ І ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ МИШЕЙ ІЗ ЛІМФОМОЮ NK/LY**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
nast13stoyko@gmail.com*

**Stoiko A.-M., Girkova S., Hreniukh V., Ikkert O., Babsky A.** INFLUENCE OF THE BENZOFURAN DERIVATIVE ON WEIGHT AND LIFE DURATION OF MICE WITH NK / LY LYMPHOMA. The effect of the newly synthesized thiazole derivative on the mice with Nemeth-Kelner lymphoma (NK/Ly) was investigated. Mice received the synthesized thiazole at various concentrations (5, 25 and 50 mg / kg of live weight). All tumor carriers had a significant increase in weight compared to the control. The injection of the derivative did not cause statistical changes in the weight or duration of the mice

Онкологічні захворювання займають друге місце у світі серед причин смертності населення після серцево-судинних захворювань. У зв'язку з цим відбувається інтенсивний пошук нових ефективних протипухлинних препаратів (Finiuk et al., 2017). Перспективною групою речовин із широким спектром дії є похідні тiazолів, які виявляють протигрибкову, противірусну, протизапальну й антидепресивну активність (Туров та ін., 2012). Особливий інтерес становлять похідні 2-аміно-5-бензил-1,3-тіазолу як потенційні протипухлинні препарати. Наявні у їхній структурі тiazольні та бензофуранові гетероцикли можуть визначати цитотоксичні властивості речовин і їхню специфічність (LeBleu et al., 2014). Попередньо встановлено виражену цитотоксичну дію новосинтезованих похідних тiazолу на окремі лінії пухлинних клітин [Finiuk, 2017, 2018].

Мета роботи - дослідити вплив похідного тiazолу (N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід, БФ1) на виживання та зміни маси мишей із лімфомою NK/Ly.

Дослідження проводили на нелінійних мишах-самцях масою 20-30 г з прищепленою лімфомою NK/Ly. Миші було розділено на 6 груп, які утримували у 2 клітках із рівномірним представленням особин кожної групи.

Асцитну форму лімфоми прищеплювали методом внутрішньочеревної інюкуляції. Наступного дня після інюкуляції мишам-пухлиноносцям почали вводити протягом 20 днів внутрішньочеревно розчин речовини у кінцевих концентраціях 5, 25 чи 50 мкг/кг живої маси. Речовину чи воду для ін'єкцій вводили щодругий день у об'ємі 200 мкл. Протягом експерименту щоденно вимірювали масу кожної особини. На підставі цих даних розраховували середню тривалість життя миші у кожній групі й усереднені зміни нормалізованої маси протягом експерименту. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми MS Excel. Для оцінки достовірності обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважали різницю між групами даних з  $P \geq 0,05$ .

У результаті було виявлено, що у мишей групи 1 (контроль) протягом експерименту маса рівномірно коливалась у межах 88-108 % від маси до початку експерименту. У мишей 2 групи (лімфома) маса зростала зі 102 до 140 % (10 день), 152 % (20 день) та 176 % (27 день). У мишей 3 групи (лімфома+вода для ін'єкцій) маса зростала зі 100 до 149 % (10 день) і 183 % (20 день) до 177 % (22 день). У мишей 4 групи (лімфома+5 мг/кг речовини) маса зростала зі 100 до 130 % (10 день), 160 % (20 день) і 168 % (24 день). У мишей 5 групи (лімфома+25 мг/кг речовини) маса зростала зі 100 до 142 % (10 день) та 152 % (17 день). У мишей 6 групи (лімфома+50 мг/кг речовини) маса зростала зі 100 до 130 % (10 день), 168 % (20 день) і 167 % (23 день). У результаті тривалість життя мишей у кожній групі становила 29, 17,3±0,7, 19,5±1,3, 13,7±2,2, 16,8±0,8 і 21±1,52 днів.

Отже, введення досліджуваної речовини мишам-пухлиноносцям *in vivo* не спричиняло змін маси чи тривалості життя порівняно з контрольною групою мишей-пухлиноносців.

### **Тарнопольська О., Котик О., Котлярова А., Марченко С.**

#### **ВПЛИВ РОКУРОНІЮ БРОМІДУ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ КАТІОННИХ КАНАЛІВ ВЕЛИКОЇ ПРОВІДНОСТІ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ НЕЙРОНІВ ПУРКІНЬЄ МОЗОЧКА І КАРДІОМІОЦИТІВ**

*Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України  
вул. Академіка Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна  
tarnopolskaolga@gmail.com*

**Tarnopolska O., Kotyk O., Kotliarova A., Marchenko S. THE INFLUENCE OF ROCURONIUM BROMIDE ON THE LARGE CONDUCTANCE CATION CHANNELS IN NUCLEAR MEMBRANE OF CEREBRAL PURKINJE NEURONES AND CARDIOMYOCYTES.** Using patch-clamp technique we ascertained that rocuronium bromide is inhibitor of N-choline receptor – decreases current amplitude through the LCC-channels of nuclear membrane of cerebellar Purkinje neurons and cardiomyocytes in dose-dependent manner.

Клітинне ядро є двомембранною органою. Для забезпечення транспорту молекул та іонів між цитоплазмою і нуклеоплазмою ядерна оболонка пронизана наскрізь ядерними порами (Paine et al., 1975), а для високоселективного транспорту між перинуклеарним простором і нуклеоплазмою/цитоплазмою у внутрішній та зовнішній ядерних мембранах містяться іонні канали (Marchenko et al., 2005; Matzke et al., 2010). У нашій лабораторії було зареєстровано струми крізь катіонні канали великої провідності (LCC-канали) в ядерних мембранах нейронів (Marchenko et al., 2005) і кардіоміоцитів (Котик та ін., 2016; Котлярова та ін., 2019). Ці потенціалозалежні, селективні до одновалентних і непроникні для двовалентних катіонів канали є нечутливими до жодного з відомих блокаторів  $K^+$ -каналів (Marchenko et al., 2005). Значну інгібуючу дію на них чинить відомий N-холіноблокатор d-тубокурарин (Lunko et al., 2016, Kotyk et al., 2017), тому для пошуку більш ефективного блокатора ми перевіряли вплив на LCC-канали інших N-холіноблокаторів.

Мета цієї роботи – дослідити вплив рокуронію броміду на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка та кардіоміоцитів.

Дослідження виконано на 3–4-тижневих щурах ліній *Wistar* і *Fisher*. Ізольовані ядра нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів виділяли, як описано раніше (Marchenko et al., 2005; Котик та ін., 2018). Струми крізь окремі іонні канали внутрішньої ядерної мембрани реєстрували за допомогою методу patch-clamp у конфігурації «nucleus-attached» або «excised patch» у режимі фіксації потенціалу. Отримані результати проаналізовано за допомогою програми Clampfit 10.7. Вірогідність різниці оцінювали на основі t-критерію Стьюдента.

Рокуронію бромід чинив виражений пригнічувальний вплив на LCC-канали ядерних мембран нейронів Пуркінє мозочка та кардіоміоцитів. Після його аплікації спостерігали дозозалежне зменшення амплітуди струму через LCC-канали нейронів Пуркінє: в концентрації 0,2 ммоль/л амплітуда зменшувалася на 8 % ( $P < 0,05$ ), 2 ммоль/л – на 47 % ( $P < 0,001$ ;  $n=3$ ), подібний ефект спостерігали на LCC-канали ядер кардіоміоцитів: 0,2 ммоль/л – на 7 % ( $P < 0,05$ ), 2 ммоль/л – 52 % ( $P < 0,001$ ;  $n=4$ ). Ймовірність перебування LCC-каналів у відкритому стані ( $P_o$ ) достовірно знижувалася за наявності 1–2 ммоль/л блокатора в середовищі. Ефект рокуронію броміду виявився зворотним - після відмивання його розчином без діючої речовини амплітуда струму через LCC-канали поверталася до контрольних значень. Подібність ефектів інгібіторів N-холінорецепторів на LCC-канали ядерної мембрани нейронів і кардіоміоцитів може свідчити про однакову фармакологічну чутливість цих каналів у досліджуваних клітинах.

Порівняно із раніше дослідженими речовинами (такими як тубокурарин, атракуріум і дитилін) рокуронію бромід виявився менш ефективним блокатором, адже пригнічувальна дія його виявляється у трохі більших концентраціях. Однак під час вибору блокатора для подальшого застосування як інструменту для з'ясування фізіологічної ролі LCC-каналів не менш важливим параметром є специфічність блокатора. Перевірка цієї характеристики стане наступним етапом нашої роботи.

**Швець В.**

**АДРЕНОРЕАКТИВНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ В УМОВАХ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ  
ІНТЕРЛЕЙКІНУ-2 ТА ЙОГО ІНГІБІТОРА ПІД ЧАС ФІЗИЧНОГО СТРЕСУ**

*Херсонський державний університет  
вул. Університетська, 27, м. Херсон, 73000, Україна  
shvetsvika88@gmail.com*

**Shvets V. ADRENORACTIVITY OF ERYTHROCYTES UNDER THE LONG-TERM INFLUENCE OF INTERLEUKIN-2 AND ITS INHIBITOR DURING PHYSICAL STRESS.** It is known that the sympatho-adrenal system mediates activity through catecholamines, which affect the immune, metabolic processes, nervous system function, adaptation processes. The  $\beta$ -adrenoreactivity of the erythrocyte membrane is a systemic marker of the body's adrenoreactivity as a whole.

Симпато-адреналова система опосередковує свою діяльність через катехоламіни, які впливають на імунні й метаболічні процеси, роботу нервової системи, адаптаційні процеси. Плазматична мембрана еритроцита містить складний рецепторний апарат, важливим компонентом якого є адренорецептори. Адренергічні препарати, зв'язуючись з мембранними рецепторами еритроцитів, змінюють їхній функціональний стан, який можна визначити по зміні агрегаційної здатності червоних клітин (Авакян, 2003).  $\beta$ -адренореактивність мембрани еритроцитів є системним маркером адренореактивності організму загалом (Малкова, 2013). За зниження у крові медіаторів адренореактивність мембрани еритроцита зменшується, а адренореактивність організму збільшується (Мальгіна, 2014). Інтерлейкін-2 (ІЛ-2) є фактором росту Т-лімфоцитів, зменшення концентрації якого після фізичного навантаження свідчить про здатність катехоламінів модулювати цитокінову мережу та призводити до зміни структури імунних клітин (Козлов, 2002; Швець, 2019).

Мета дослідження - вивчити адренореактивність еритроцитів (АРЕ) білих мишей в умовах тривалого впливу різних доз рекомбінантного ІЛ-2 та його інгібітора на тлі фізичного стресу. Самцям мишей протягом 6 тижнів підшкірно вводили ІЛ-2 (Ронколейкін) і перорально його інгібітор (Циклоспорин). Дослідна група складалася з підгруп: I група - вводили Циклоспорин (10 мг/кг), II, III та IV – ІЛ-2 (5000 МО/кг, 7500 МО/кг і 30 000 МО/кг відповідно), V – фізіологічний розчин. Препарати вводили 3 рази на тиждень, перед кожним тренуванням (примусове плавання з вантажем). Через 4 тижні робили перерву на 14 днів, а на 6-му тижні провели контроль післядії.

Для визначення адаптаційних змін під час фізичного стресу виділяли певні періоди: контроль, 2-, 4- і 6-й тижні. АРЕ визначали з додаванням адреналіну в концентрації  $10^{-9}$  ммоль/л (Шамратова, 2011) і розраховували за різницею відхилення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) з адреналіном від контрольної ШОЕ. Визначали типи АРЕ: антиагрегаційний – ШОЕ з адреналіном була нижча від контрольної ШОЕ; агрегаційний тип – ШОЕ з адреналіном була вища від контрольного рівня ШОЕ; ареаактивний тип – не було значних відхилень (Мальгіна, 2014).

На другому тижні дослідження в II і III групах АРЕ були антиагрегаційного типу. Після додавання адреналіну значення ШОЕ були нижчими від контрольної ШОЕ на 18,5 і 36,1 % відповідно. Наомість, у тварин із IV та I груп АРЕ на 2-му тижні була агрегаційного типу. Відповідно, значення контрольної ШОЕ на 19,2 і 57 % нижче, ніж за додавання адреналіну. На 4-му тижні експерименту у II, III та IV групах АРЕ була агрегаційного типу. Причому найвищий рівень ШОЕ був у групі із введенням ІЛ-2 у концентрації 30 000 МО/кг (збільшення на 55,8 %). У групі тварин, яким вводили інгібітор ІЛ-2, АРЕ була антиагрегаційного типу (ШОЕ зменшилась на 59,6 %). Наприкінці дослідження (6-й тиждень) АРЕ у IV групі (ІЛ-2 у найбільшій концентрації) була ареаактивного типу, у I, II і III групах – агрегаційного типу (збільшення ШОЕ на 50, 86,3 і 55,8 % відповідно). АРЕ у V групі протягом усього експерименту була антиагрегаційного типу, різких коливань не спостерігали (найменше значення було на 6-му тижні – зменшення ШОЕ на 32,1 %).

Тож ІЛ-2 в умовах фізичного стресу впливає на функціональний стан еритроцитів периферичної крові, змінюючи залежно від концентрації їхню адренореактивність.

**Chipak S.<sup>1</sup>, Zub A.<sup>1</sup>, Manko B.O.<sup>1</sup>, Ostapiv R.<sup>1,2</sup>, Manko V.V.<sup>1</sup>**

**INFLUENCE OF SODIUM PYRUVATE ON PANCREATIC MORPHOLOGY AND AMINO ACID BLOOD LEVELS IN RATS WITH ARGININE-INDUCED ACUTE PANCREATITIS**

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

*<sup>2</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives  
11, Donetska St., Lviv, 79019, Ukraine  
sofia.chipak999@gmail.com*

Mitochondrial injury at the acinar cell of the pancreas may be one of the possible mechanisms of pancreatitis development. Pancreatitis accompanied by a disruption of the spectrum of amino acids in the blood plasma, which may be associated with decreased exocrine pancreatic function. It is also known that *in vitro* the oxidative substrate pyruvate protects pancreatic acinar cells from necrosis caused by inducers of pancreatitis. The study aimed to investigate the effect of sodium pyruvate *in vivo*, on pancreatic morphology and blood amino acid levels in arginine-induced AP model at rats.

All experiments were conducted on male Wistar rats 250-300 g. Acute pancreatitis was induced by administration

of L-arginine (twice 2.5 g / kg for 1 h). After 72 h a group of the animals were administered sodium pyruvate (1 g / kg) over the next 4 days. Control group of animals were injected with saline. On the eighth day of the experiment, pancreatic tissue was collected from animals after decapitation. Electron microscopy performed with tissue fixation in 1.5 % OsO<sub>4</sub> solution. Histological preparations were stained by the haematoxylin and eosin technique. Amino acid analysis of blood plasma was performed using high-performance liquid chromatography. For analysis Waters chromatographic system was used. The obtained results were evaluated statistically by one-way ANOVA.

In control animals, acinar pancreatic cells had normal morphology, whereas in the group of animals with acute pancreatitis diffuse reduction in cell size and the appearance of necrosis sites was observed. Administration of sodium pyruvate did not improve the morphology of the pancreas. Electron microscopy showed that animals with pancreatitis had shrinkage of the cytoplasm and the granular endoplasmic reticulum, damage of the nucleoli and fragmentation of mitochondria, even after administrations of sodium pyruvate.

In animals with pancreatitis the levels of valine, methionine, asparagine, leucine, isoleucine, cystine, phenylalanine, serine, ornithine, and tryptophan in blood decreased by 11-49 % in comparison to the control, glutamine and cysteine did not change while glutamate and aspartate levels increased by 38 and 49 %, accordingly. Sodium pyruvate completely or partially normalized the levels of methionine, phenylalanine, tryptophan, serine, aspartate, ornithine, leucine, isoleucine and cystine, but did not affect the level of asparagine, valine and glutamate. In addition, sodium pyruvate significantly reduced the level of cysteine (by 26 %) of glutamine (by 27 %).

In conclusion, administration of the sodium pyruvate to animals with arginine-induced pancreatitis do not cause improvement in pancreatic morphology, but significantly normalizes the level of amino acids in the blood. These data could be a basis for future use of pyruvate as maintenance therapy for acute pancreatitis in humans.

**Firlong O., Pawlicka K., Malek A., Jarzyńska N., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

#### DOSE-DEPENDENT INFLUENCE OF EUCALYPTUS ESSENTIAL OIL ON OSMOTIC-INDUCED HEMOLYSIS OF HUMAN ERYTHROCYTES

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Essential oils (EOs) have shown antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative activity, which may, alone or in combination with other substances, potentially be used for the development of new drugs (Miguel et al., 2018). The genus *Eucalyptus* L'Heritier comprises about 900 species, of which more than 300 species contain volatile essential oil in their leaves. About 20 species, within these, have a high content of 1,8-cineole (more than 70%), commercially used for the production of essential oils in the pharmaceutical and cosmetic industries (Dhakad et al., 2018). Eucalyptus leaves are traditionally employed for asthma and bronchitis treatment. Recent studies have demonstrated antimicrobial, antiseptic, antioxidant, chemotherapeutic, respiratory and gastrointestinal disorder treatment, wound healing, and insecticidal/insect repellent, herbicidal, acaricidal, nematocidal, and perfumes, soap making and grease remover (European Medicines Agency, 2012; Dhakad et al., 2018).

We continue to assess the dose-dependent antioxidant potential of various essential oils using a human erythrocytes' model. The current study aimed to assess possible antioxidant and anti-hemolytic effects of EO (Etja, Elbląg, Poland) using osmotic-induced hemolysis assay on human erythrocytes' model after incubation with eucalyptus EO in three dilutions (50-, 100-, and 500-fold, respectively).

Blood (10–20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture. The Research Ethics Committee of Regional Medical Chamber in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4°C were used within 6 h of sample preparation. The blood sample (4.9 mL, 4.95 mL, and 4.99 mL, respectively) was incubated with 0.1, 0.05, and 0.01 mL of eucalyptus EO, respectively (final concentration was 20, 10, and 5 µg/mL) at 25 °C for 15 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 25 °C. Samples were removed at 20 min of storage for analysis. The untreated erythrocyte samples were used as the control sample.

The osmotic-induced hemolysis of erythrocytes was measured spectrophotometrically with different NaCl solutions (Marianańska et al., 2013). The assay is based on the measuring of the percent of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action (0.1-0.9% NaCl). The assay mixture contained 2.5 mL of NaCl solutions and 0.05 mL of 1% erythrocyte suspension. The absorbance was read at 540 nm. The absorbance of the samples contained erythrocytes with distilled water was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) at different NaCl solutions was expressed as a curve. All statistical calculations were performed on separate data from each individual with STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

In the 0.9% NaCl solution, percent of hemolyzed erythrocytes were increased by 2.9-fold after incubation with eucalyptus EO (final concentration was 20 µg/mL) compared to the untreated sample (11.8% vs. 4.1%). Similar results were obtained in the samples with 0.8-0.6% NaCl solution: 12.7% vs. 4.3% (0.8% NaCl), 14.9% vs. 5.6% (0.7% NaCl), and 19.3% vs. 5.7% (0.6% NaCl). In the sample with 0.5% NaCl, a double increase in the percentage of hemolysis was observed, i.e. 41.7% vs. 18.2%. After incubation in solutions of 0.4%-0.1% NaCl, adding of eucalyptus EO to the erythrocytes caused an increase of hemolysis (44.5%-50% vs. 98.4%-99.3%).

Adding of eucalyptus EO in final concentration 10 µg/mL to the erythrocytes caused a significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 18.0% vs. 1.2% (0.9% NaCl), 28.6% vs. 1.2% (0.8% NaCl), 33.2% vs. 1.4% (0.7% NaCl), 35.7% vs. 1.9% (0.6% NaCl), and 55% vs. 22.7% (0.5% NaCl). In the sample with 0.3-0.1% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding eucalyptus EO to the erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (90.7%-99.9% vs. 96.7%-99.9%).

Incubation of human erythrocytes with eucalyptus EO in final concentration 5 µg/mL caused a significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 5.5% vs. 2.7% (0.9% NaCl), 6.5% vs. 3% (0.8% NaCl), 6.6% vs. 3.1% (0.7% NaCl), 13.7% vs. 3.3% (0.6% NaCl), and 26.3% vs. 19.1% (0.5% NaCl). In the sample with 0.4-0.1% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding eucalyptus EO to the erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (94.1%-97.5% vs. 93.5%-99.5%).

Comparing three doses tested it can be concluded that the highest percentage of hemolysis is obtained after incubation of human erythrocytes with eucalyptus EO in final concentration 10 µg/mL. In the samples with 0.6% NaCl, the percentage of hemolysis was 35-fold higher compared to the untreated erythrocytes. In our study, eucalyptus EO exhibited hemolytic properties after incubation in final concentrations 20, 10, and 5 µg/mL using the human erythrocytes model. Comparing the three concentrations tested, the safest final concentration of eucalyptus EO was 5 µg/mL causing the least percentage of hemolysis in samples. Additional studies are required to investigate the anti-hemolytic and antioxidant activity of this EO using different models in the *in vitro* study.

**Frydrych A.<sup>1,2</sup>, Sidor E.<sup>1,2</sup>, Dżugan M.<sup>2</sup>**

#### TESTING OF EXAMINATION FAST METHOD FOR DETECTION OF HONEY ADULTERATION

<sup>1</sup>Scientific Group of Food Technologist "FERMENT" University of Rzeszow

<sup>2</sup>Department of Chemistry and Food Toxicology, University of Rzeszów

2a, Ćwiklińskiej St., Rzeszów, 35-601, Poland

adrian.frydrych@op.pl

Honey is a sweet food product, under natural conditions, mainly produced by true bees (honey bees), by processing the flower nectar of honey plants, as well as some secretions found on coniferous leaves. Bees collect honey in a honeycomb, where it matures. Depending on the raw material from which honey was made, honey is distinguished: nectar (floral), honeydew, mixed (nectar-honeydew or honeydew-nectar). Honey is a rich source of biologically active compounds. These product for the sake of high concentration of glucose and fructose may be used a substitute for a sugar.

The biggest problem with honey is its quality. Like many other food commodities, honey adulteration is common and it can be direct or indirect. Direct adulteration means that a substance is added directly to honey. Indirect adulteration happens when honeybees are fed adulterating substance. Such indirect adulteration is extremely difficult to detect. Moreover, since food regulations remain a bit dodgy, we can never be too sure what we buy - real or fake honey? However, some easy home tricks to check its purity and ways to spot adulterated honey are proposed.

The aim of study was to check a few simple home tests for honey purity determination and to compare obtained results with the chosen physicochemical parameters of tested honeys. Eight samples of varietal honeys were used originated from Podkarpackie region of South-Eastern Poland and Slovakia. Samples were liquefied in water bath at 42 °C. As the negative control commercial artificial honey was used. For the practical of dissolution of honey assessment of samples were used sensory attempt with water and observation lesions at the time. For the content of glucose, ascorbic acid and hydroxymethylfurfural (HMF) thereflectometric method (RQflex® 10 with Reflectoquant® tests strips, Merck Millipore GERMANY) were used. The water content was analysed by refractometry method.

The content of glucose was relatively the same in all of samples (about 40-50 g/100g of honey). However, ascorbic acid and HMF contents were more diversified, from 1,25 to 4,1 mg/100g and from 0,345-4mg/100g of honey, respectively. The water content varied from 17.2 to 21.2 %). The results of simple sensory tests were inconclusive (ranged between 12 and 120 sec) and were not correlated with physicochemical properties of honeys. It was found that the simple home detection of adulterated honey is not possible.

**Honcharenko V.<sup>1</sup>, Nachychko V.<sup>1,2</sup>, Prokopiv A.<sup>1,2</sup>, Tkachenko H.<sup>3</sup>, Kurhaluk N.<sup>3</sup>, Osadowski Z.<sup>3</sup>**

#### LIPID PEROXIDATION IN THE HUMAN BLOOD AFTER *IN VITRO* TREATMENT BY LEAF EXTRACTS OBTAINED FROM SOME *THYMUS* L. (*LAMIACEAE*) REPRESENTATIVES

<sup>1</sup>Department of Botany, Faculty of Biology, Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine

Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005. Ukraine

<sup>2</sup>Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine

Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine

<sup>3</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland

Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland

e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

This study describes the interaction of aqueous extracts of leaf extracts obtained from various *Thymus* representatives with human erythrocytes. The cell membrane is a diffusion barrier which protects the cell interior.



Therefore, its structure and functions are susceptible to alterations as a consequence of interactions with foreign species. Erythrocytes were chosen because although less specialized than many other cell membranes they carry on enough functions in common with them, i.e. active and passive transport, the production of ionic and electric gradients, etc. Therefore, their structure can be considered representative of the plasma membrane in general (Suwalsky et al., 2006, 2008). The erythrocytes could be isolated and handled easily so that they could provide a good model for many assays (Alagawany et al., 2016; Farag and Alagawany, 2018). Additionally, the high concentration of polyunsaturated fatty acids in the membrane, the high oxygen tension, and redox-active hemoglobin molecules [the source of reactive oxygen species in erythrocyte] make them a good biological lipid membrane model especially for screening the oxidative stress conditions induced by various substances (Farag and Alagawany, 2018).

We continue to assess the dose-dependent pro- and antioxidant potential of four species and one interspecific hybrid of *Thymus* genus sampled in the western part of Ukraine on human erythrocytes' model. Thus, the main aim of our study was to assess the dose-dependent pro- and antioxidant potential of four species and one interspecific hybrid of *Thymus* genus sampled in the western part of Ukraine on human erythrocytes' model. For this purpose, we used 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as a biomarker of lipid peroxidation used as an assessment of oxidative stress in erythrocytes' suspension after incubation with plant extracts in dose 5 mg/mL.

Leaves of *Thymus serpyllum* L. were collected among the grass on sandy soil in the edge of a pine forest (Baymaky village, Bilohirya district, Khmelnytsky region, Ukraine; N 50°03'58,9'', E 26°13'37,5'', 257 m a.s.l.). Leaves of *Th. pannonicus* All. were harvested among grass in the roadside between the two cultivated fields (Syvky village, Bilohirya district, Khmelnytsky region, Ukraine; N 50°02'09,6'', E 26°13'19,2'', 283 m a.s.l.). Leaves of *Th. pulegioides* L. were collected among grass nearby land parcels (Syvky village, Bilohirya district, Khmelnytsky region, Ukraine; N 50°02'02,8'', E 26°14'13,9'', 306 m a.s.l.). Leaves of *Th. × porcii* Borbás (a hybrid between *Th. pannonicus* and *Th. pulegioides*) were sampled in the grass stand, on the side of the footpath of the race track (Medovoi Pechery Str., Lviv, Ukraine; N 49°49'15.1'', E 24°05'12.5'', 348 m a.s.l.). Leaves of *Th. alpestris* Tausch ex A. Kern. were harvested on the side of the road below the stream, in mountain valley Shumneska (Kvasy village, Rakhiv district, Zakarpattia region, Ukraine; N 48°09'32.3'', E 24°21'26.4'', 1259 m a.s.l.). Identification of these five taxa was made according to Nachychko (2014, 2015) and Nachychko and Honcharenko (2016). The voucher herbarium specimens of plants used in this study were deposited at the Herbarium of M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine (KW). Plant samples were thoroughly washed to remove all the attached material and used to prepare the extract.

Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in proportion 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. The extracts were stored at -20 °C until use.

Blood (10-20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture (4 males and 5 females aged 28-53-years old). The Research Ethics Committee of Regional Medical Hospital in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4 °C were used within 6 h of sample preparation. An erythrocytes' suspension at 1% hematocrit was incubated with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) (control) and pre-incubated with the extracts (5 mg/mL) at 37 °C for 60 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 37 °C. For positive control (phosphate buffer) was used. Erythrocytes' aliquots were used in the study. The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyshnikov (2004) method for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration. The  $\mu\text{mol}$  of MDA per L was calculated using  $1.56 \cdot 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  as the extinction coefficient.

The mean  $\pm$  S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the values (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Kruskal-Wallis *H* test (Zar, 1999). All statistical calculation was performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Our results revealed, that the treatment by extracts obtained from various plants belonging to the *Thymus* genus in dose 5 mg/mL increased the TBARS level when compared to untreated erythrocytes. The most potent prooxidative effect was demonstrated by the *Th. alpestris*, *Th. serpyllum*, *Th. x porcii*, and *Th. pannonicus* compared to phosphate buffer as control samples (an increase of TBARS content by 82%, 78.7%, 53.7%, and 34.1%,  $p < 0.05$ , respectively). The minimum increase of TBARS content in human erythrocytes' suspension was induced by *Th. pulegioides* extract (by 11.2%,  $p < 0.05$ ).

In conclusion, the most potent prooxidative effect was demonstrated by the *Th. alpestris*, *Th. x porcii*, and *Th. pannonicus* compared to phosphate buffer as a control sample. The minimum increase of TBARS content in human erythrocyte suspension was induced by *Th. pulegioides* extract. On the other hand, *Th. serpyllum* and *Th. pulegioides* extracts decreased the TBARS level (by 16.5% and 2.7%, respectively), but these changes were no significant. Further research is needed to determine the effects of the active compounds of various plants belonging to the *Thymus* genus on erythrocytes' metabolism.

*This study was supported by The Polish National Agency for Academic Exchange, and we thank them for supporting our study.*

**Honcharenko V.<sup>1</sup>, Nachychko V.<sup>1,2</sup>, Prokopiv A.<sup>1,2</sup>, Tkachenko H.<sup>3</sup>, Kurhaluk N.<sup>3</sup>, Osadowski Z.<sup>3</sup>**

EFFECT OF *THYMUS* × *PORCII* BORBÁS EXTRACT  
ON THE HCL-INDUCED HEMOLYSIS *IN VITRO* USING THE EQUINE ERYTHROCYTES

<sup>1</sup>*Department of Botany, Faculty of Biology, Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005. Ukraine*

<sup>2</sup>*Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine*

<sup>3</sup>*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

The genus *Thymus* consists of approximately 215 species currently recognized (Morales, 2002). These herbaceous perennials and sub-shrubs distributed in Europe, Northwest Africa, Ethiopia, Asia and Greenland (Morales, 2002; Bartolucci et al., 2013). It is one of the most widely used genera in folk medicine, where it is popular for its stimulatory action on all organism functions (Viuda-Martos et al., 2011). These plants possess a variety of activities including antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic, analgesic, and anti-diabetic due to the presence of second metabolites, i.e. flavonoids, phenylpropanoids, tannins, organic acids, terpenoids, and phytosterols (Li et al., 2019).

Thymol (10-64%) is one of the major constituents of the essential oils of thyme (*Thymus vulgaris* L.), a medicinal plant with several therapeutic properties (Salehi et al., 2018). These multiple therapeutic effects of thymol are largely attributed to its anti-inflammatory (*via* inhibiting recruitment of cytokines and chemokines), antioxidant (*via* scavenging of free radicals, enhancing the endogenous enzymatic and non-enzymatic antioxidants and chelation of metal ions), antihyperlipidemic (*via* increasing the levels of high-density lipoprotein cholesterol and decreasing the levels of low-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol in the circulation and membrane stabilization) (*via* maintaining ionic homeostasis) effects (Nagoor Meeran et al., 2017). Thymol also increases the activity of endogenous antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, and the level of other non-enzymatic antioxidants such as vitamin C, vitamin E, and reduced glutathione (Nagoor Meeran and Prince, 2012), and thereby the total antioxidant status *in vivo* (Youdim and Deans, 2000).

In the current study, the lipid peroxidation biomarker [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)] and HCl-induced hemolysis of the equine erythrocytes was used for assessing the antioxidant activity of extract obtained from the leaves of *Th. × porcii* Borbás (a hybrid between *Th. pannonicus* and *Th. pulegioides*).

Leaves of *Th. × porcii* (a hybrid between *Th. pannonicus* and *Th. pulegioides*) were sampled in the grass stand, on the side of the footpath of the race track (Medovoi Pechery Str., Lviv, Ukraine; N 49°49'15.1", E 24°05'12.5", 348 m a.s.l.). Identification of this species was made according to Nachychko (2014, 2015) and Nachychko and Honcharenko (2016). The voucher herbarium specimens of plants used in this study were deposited at the Herbarium of M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine (KW). Plant samples were thoroughly washed to remove all the attached material and used to prepare the extract. Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. The extract was stored at -20 °C until use.

Eighteen healthy adult horses from the central Pomeranian region in Poland (village Strzelinko, N54°30'48.0" E16°57'44.9"), aged 8.9±1.3 years old, including 6 Hucul ponies, 5 Thoroughbred horses, 2 Anglo-Arabian horses and 5 horses of unknown breed, were used in the current study. All horses participated in recreational horseback riding. Horses were housed in individual boxes, with feeding (hay and oat) provided twice a day, at 08.00 and 18.00 h, and water available *ad libitum*. All horses were thoroughly examined clinically and screened for hematological, biochemical and vital parameters, which were within reference ranges. The females were non-pregnant.

Blood was drawn from the jugular vein of the animals in the morning, 90 minutes after feeding, while the horses were in the stables (between 8:30 and 10 AM). Blood was stored in tubes with 3.8% sodium citrate as the anticoagulant and held on the ice until centrifugation at 3,000 rpm for 5 min to remove plasma. The pellet of blood was resuspended in 4 mM phosphate buffer (pH 7.4). A volume of 0.1 ml of the plant extract was added to 1.9 ml of clean equine erythrocytes. For positive control, phosphate buffer was used. After incubation of the mixture at 37°C for 60 min with continuous stirring, it was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Erythrocytes aliquots were used in the study.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyshnikov (2004) method for determining the malondialdehyde (MDA) concentration. The acid resistance of erythrocytes was measured spectrophotometrically with 0.1M HCl (Terskov and Gitelson, 1957). The assay is based on the measuring of the dynamics of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action. The time of hemolytic reagent action serves as the measure of erythrocyte resistance. The assay mixture contained 5 mL of 1% erythrocyte suspension and 0.05 mL of 0.1M HCl. The absorbance was read at 540 nm every 30 seconds after 0.1M HCl adding till the end of hemolysis. The difference of absorbance at the beginning and the end of hemolysis was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) every 30 seconds was expressed as a curve.

The mean  $\pm$  S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the values (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Mann-Whitney *U* test (Zar, 1999). All statistical calculation was performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

The *Th. x porcii* extract caused to increase of TBARS content as a biomarker of lipid peroxidation in the extract-treated erythrocytes, and these results were statistically significant (by 57.4%,  $p < 0.05$ ). In the control group (erythrocyte suspension), erythrocytes incubated with 0,1M HCl remained stable and demonstrated slight hemolysis. The maximum level of hemolysis was  $(10.6 \pm 0.91)\%$ ; the total duration of hemolysis was 19 min. When *Th. x porcii* extract (5 mg/mL) was added to the erythrocyte suspension, the maximum level of hemolysis occurred after 8.5 min of incubation with 0,1M HCl ( $17.91 \pm 1.87\%$ ). The total duration of hemolysis after *Th. x porcii* extract (5 mg/mL) incubation was 11.5 min. Our results showed that HCl-induced hemolysis in a typical time-dependent manner. Therefore, *Th. x porcii* extract at a concentration of 5 mg/mL induced the increase of hemolyzed erythrocytes and caused to decrease in hemolysis duration.

Our results showed that *Th. x porcii* extract at a concentration of 5 mg/mL induced the increase of lipid peroxidation, as well as hemolyzed erythrocytes and caused to decrease in hemolysis duration. Screening of *Thymus* species for other biological activities including antioxidant activities, as well as evaluation of dose-dependent manner, is essential and may be effective for searching the preventive agents in the pathogenesis of some metabolic diseases. However, further investigation is needed to determine the bioavailability of the active compounds and to determine the dose and toxicity of these extracts.

*This study was supported by The Polish National Agency for Academic Exchange, and we thank them for supporting our study.*

**Jarzyńska N., Firlong O., Pawlicka K., Malek A., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

#### HEMOLYSIS OF HUMAN ERYTHROCYTES INDUCED BY TEA TREE OIL

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Essential oils (EOs) are odorous, volatile products of plant secondary metabolism, are which found in many leaves and stems. They show important biological activities, which account for the development of aromatherapy used in complementary and alternative medicine (Chao et al., 2017). Tea tree oil (TTO) is an essential oil, steam-distilled from the Australian native plant, *Melaleuca alternifolia*. The primary uses of tea tree oil have historically capitalized on the antiseptic and anti-inflammatory actions of the oil (Carson et al., 2006). Terpinen-4-ol is a major TTO component that exhibits strong antimicrobial and anti-inflammatory properties. Tea tree oil exerts antioxidant activity and has been reported to have broad-spectrum antimicrobial activity against bacterial, viral, fungal, and protozoal infections affecting skin and mucosa. It also accelerates the wound healing process and exhibits anti-skin cancer activity (Pazyar et al., 2013; Wu et al., 2012; Sharifi-Rad et al., 2017). Nonetheless, it has been acknowledged that EOs show toxic activities when applied to different cell populations, including fibroblasts, epithelial cells, monocytes, and neutrophils (Carson et al., 2002; Bakkali et al., 2008).

This study aimed to evaluate and compare the effects and three doses (final concentrations were 20, 10, and 5  $\mu\text{g/mL}$ ) of tea tree oil (TTO) on the hemolysis parameters of human erythrocytes, as the step towards possible application as the anti-hemolytic agent.

The venous blood (10–20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture (7 females aged 23–36-years old). The Research Ethics Committee of Regional Medical Chamber in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4 °C were used within 6 h of sample preparation. The blood sample (4.9 mL, 4.95 mL, and 4.99 mL, respectively) was incubated with 0.1, 0.05, and 0.01 mL of TTA, respectively (final concentrations were 20, 10, and 5  $\mu\text{g/mL}$ ) at 25 °C for 15 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 25 °C. Samples were removed at 20 min of storage for analysis. The untreated erythrocyte samples were used as the control sample.

The osmotic-induced hemolysis of erythrocytes was measured spectrophotometrically with different 0.1-0.9% NaCl solutions (Mariańska et al., 2013). The assay is based on the measuring of the percent of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action (0.1-0.9% NaCl). The assay mixture contained 2.5 mL of NaCl solutions and 0.05 mL of 1% erythrocyte suspension. The absorbance was read at 540 nm. The absorbance of the samples contained erythrocytes with distilled water was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) at different NaCl solutions was expressed as a curve. All statistical calculations were performed on separate data from each individual with STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Treatment of the human erythrocytes by TTA in final concentration 20  $\mu\text{g/mL}$  caused a statistically significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 20.2% vs. 4.1% (0.9% NaCl), 26.4% vs. 4.3%

(0.8% NaCl), 27.5% vs. 5.6% (0.7% NaCl), 32.9% vs. 5.7% (0.6% NaCl), and 36.8% vs. 18.2% (0.5% NaCl). The increase of hemolysis was 4.9-fold (0.9% NaCl), 6.1-fold (0.8% NaCl), 4.9-fold (0.7% NaCl), 5.8-fold (0.6% NaCl), 2-fold (0.5% NaCl), respectively. In the sample with 0.4-0.1% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding TTO to the erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (83.7%, 88.1%, 91.9%, and 94.6% vs. 98.4%, 98.5%, 99%, and 99.3%). In the sample with 0.4-0.1% NaCl, TTO in final concentration 20 µg/mL exhibited anti-hemolytic activity after the treatment of human erythrocytes.

TTO in final concentration 10 µg/mL caused a significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 8.3% vs. 1.23% (0.9% NaCl), 12.6% vs. 1.23% (0.8% NaCl), 16.6% vs. 1.5% (0.7% NaCl), 20.9% vs. 1.97% (0.6% NaCl), and 24.2% vs. 22.7% (0.5% NaCl). The increase of hemolysis was 6.7-fold (0.9% NaCl), 10.2-fold (0.8% NaCl), 11.3-fold (0.7% NaCl), 10.7-fold (0.6% NaCl), 1.1-fold (0.5% NaCl), respectively. After incubation in solutions of 0.4%-0.1% NaCl, adding of TTO to the human erythrocytes caused the decrease of hemolysis (by 1.2%, 4.3%, 3.9%, and 1.6%, respectively).

Exposure of human erythrocytes to the TTO in final concentration 5 µg/mL caused an anti-hemolytic effects. In the sample with 0.9-0.5% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding the TTO to the human erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (4.2%, 6.3%, 7.1%, 8.5%, and 22.5% vs. 2.73%, 2.97%, 3.1%, 3.33%, and 19.14%, respectively). Incubation of human erythrocytes with TTO in final concentration 5 µg/mL caused a significant decrease of hemolysis in the samples with 0.4-0.1% NaCl solutions: 83.7% vs. 93.5% (0.4% NaCl), 93.5% vs. 96.3% (0.3% NaCl), 98.3% vs. 99.2% (0.2% NaCl), and 98.8% vs. 99.5% (0.1% NaCl). The decrease of hemolysis was 10.4% (0.4% NaCl), 2.9% (0.3% NaCl), 0.8% (0.2% NaCl), and 0.71% (0.1% NaCl), respectively.

Overall, TTO seems to be well tolerated by human erythrocytes down to a concentration of 5 µg/mL; higher quantities of this TTO determined increasing impairment in a concentration-dependent manner as shown by the results of the erythrogram models. This trend strengthens the necessity to test the toxic effects of exogenous compounds directly on the erythrocytes when the aim is to use them in the biological membrane model. The overall findings regarding the effects of the essential oil derived from *M. alternifolia* are similar to the ones reported for human monocytes and polymorphonuclear neutrophils (Caldefie-Chézet et al., 2004). Additional *in vitro* dose-dependent trials are needed to confirm the effectiveness of this oil. It is a potent antioxidant for the future development of complementary and alternative medicine-based aromatherapy.

#### Kaverinska A. I.

##### EFFECT OF NERVOUS SYSTEM TYPE ON PECULIARITIES OF HEART ACTIVITY REGULATION ASSESSED BY HRV METHOD

*V. N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine  
kaverinskaanna@gmail.com*

The problem of the peculiarities of the effect of emotional stress on a person becomes more and more important due to the increasing factors that cause it. This is especially true for young people, due to the increased stress of their nervous system. In such circumstances, the study of the features of the response of the nervous system to emotional load is relevant. Heart rate variability (HRV) allows you to quantify the impact of emotional stress.

The study was conducted on a group of 36 conditionally healthy student volunteers of 1 course of biological faculty. Aysenck testing was performed to detect the type of nervous system. The testing allowed to distinguish four groups: group I – strong balanced mobile (5 people), group II – strong unbalanced mobile (14 people), group III – strong balanced inert (5 people). Group IV – weak unbalanced inert (12 people).

Students went through two stages of the study. The first was an assessment of HRV during the semester (February – April 2019), and the second - during the session, in the interval between the two exams (May 2019).

The experiment was conducted on the basis of the Laboratory of Electrophysiological Research, Department of Human and Animal Physiology, V. N. Karazin Kharkiv National University using the CardioLab KhI-Medica electrocardiographic computer complex. (Краснов, 2014) HRV assessment was performed using a standard breath test protocol. (Рабочая группа Европейского кардиологич. об-ва, 1999)

The data were analyzed for compliance with the normal Shapiro-Wilkie criterion. (Федоров, 2000) If this criterion was met, further statistical analysis was performed using the Student-Fisher criteria.

HRV indices for different types of nervous system vary depending on strength, mobility and stability. In the pre-session period it was found that: the activity index of regulatory systems (ПАРС) in the mobile type of the nervous system increases, and in the inert decreases; an indicator that reflects mainly the activity of the hormone level of cardiac regulation (VLF (very low frequency)), decreases in the weak type of nervous system and increases in the strong.

During examinations, the strong nervous system is characterized by a decrease in the VLF index and a weak one by an increase, which indicates the activity of the hormonal link of regulation. Vagosympathetic interaction index – LF / HF (low frequency / high frequency), which reflects the balance of sympathetic and parasympathetic departments ANS, for a balanced type of nervous system is characterized by an increase compared to the period between exams, and for the unbalanced – a decrease.

Kharchenko I.<sup>1</sup>, Maryniuk M.<sup>1</sup>, Opryshko M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>1</sup>

PROTEIN DAMAGE IN THE MUSCLE TISSUE OF THE RAINBOW TROUT  
(*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM) AFTER TREATMENT BY LEAF EXTRACTS  
OF *CAMELLIA JAPONICA* L. CULTIVARS (*THEACEAE* D. DON)

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

Algae, herbs, plant extracts rich in polyphenols, green tea extracts and essential oils are also used in aquaculture for immune enhancement and improved disease resistance (Amar et al., 2004; Nootash et al., 2013). Assessing antioxidant modulation about nutrition is very important. The development of prooxidative and antioxidant responses is an important step for a better understanding of nutritional modulation of the antioxidant response. The techniques for assessment of oxidative stress biomarkers provide more possibilities for the investigation of the fish response, especially lipid peroxidation and oxidatively modified proteins in the study *in vitro* (Kharchenko et al., 2017, 2018).

The oxidative modification of proteins by reactive species, especially reactive oxygen species, is formed through a large number of physiological and non-physiological reactions. An increase in the rate of their production or a decrease in their rate of scavenging will increase the oxidative modification of cellular molecules, including proteins (Stadtman and Levine, 2000).

For the most part, oxidatively modified proteins are not repaired and must be removed by proteolytic degradation, a process that normally proceeds very efficiently, from microorganisms to mammals. In eukaryotes, removal is usually carried out by the proteasome, which selectively degrades oxidatively modified proteins, whether they are damaged by reactive oxygen species or specifically oxidized by cellular regulatory processes (Levine, 2002). Accumulation of modified proteins disrupts cellular function either by loss of catalytic and structural integrity or by interruption of regulatory pathways (Stadtman and Levine, 2000).

Although pharmacological activities of extracts from various parts of *Camellia* L. species were well investigated, studies regarding its protective effects against oxidative damage in the muscle tissue of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) have not yet been undertaken. Therefore, we focused on investigating the *in vitro* antioxidant effect of leaf extracts of *Camellia japonica* cultivars. Consequently, this study aimed to evaluate the oxidative damage of proteins (aldehydic and ketonic derivatives as biomarkers) in the muscle tissue of rainbow trout after incubation with extracts obtained from leaves of various *Camellia japonica* cultivars, i.e. 'Kramer's Supreme', 'C.M. Wilson', 'La Pace', 'Mrs. Lyman Clarke', 'Benikarako', 'Fanny Bolis'.

The leaves of *Camellia japonica* plants cultivated under glasshouse conditions were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (Kyiv, Ukraine). Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 100 mM sterile phosphate buffer saline solution (pH 7.2) (in ratio 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and investigated. All extracts were stored at -20°C until use.

Clinically healthy rainbow trout with a mean body mass of 80-120 g were used in the experiments. The experiments were performed in water at 14.5 ± 0.5°C and pH 7.2-7.4. The dissolved oxygen level was about 9 ppm with additional oxygen supply, with a water flow of 25 L/min, and a photoperiod of 12 h per day. The same experimental conditions were used during the whole research. The water parameters were maintained under constant surveillance. The fish were held in square tanks (150 fish per tank) and fed commercial pelleted diet.

The muscle tissue samples were homogenized in ice-cold buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.2) using a glass homogenizer immersed in an ice water bath. Homogenates were centrifuged at 3,000 g for 15 min at 4°C. After centrifugation, the supernatant was collected and frozen at -20°C until analyzed. Protein contents were determined with the method described by Bradford (1976) with bovine serum albumin as a standard. Absorbance was recorded at 595 nm. All enzymatic assays were carried out at 22 ± 0.5°C using a Specol 11 spectrophotometer (Carl Zeiss Jena, Germany). The enzymatic reactions were started by adding the tissue supernatant.

The supernatant of the muscle tissue was used to incubate with leaf extracts of various cultivars of *C. japonica* (in a ratio of 19:1) at room temperature. The positive control group (trout muscle tissue) was incubated with 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) (in a ratio of 19:1). The incubation time was 2 hours. Lipid peroxidation biomarker was evaluated in the incubated homogenate (control group and in samples with extracts of various cultivars of *C. japonica*).

To evaluate the protective effects of the extract against free radical-induced protein damage, a carbonyl derivatives content of protein oxidative modification (OMP) assay based on the spectrophotometric measurement of aldehydic and ketonic derivatives in the samples was performed. The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNFH) as described by Levine and co-workers (1990) and as modified by Dubinina and co-workers (1995).

The mean ± S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test (p>0.05). The significance of differences (significance level, p<0.05) was examined using the Kruskal-Wallis test by ranks (Zar, 1999). All statistical calculation was performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

When muscle tissue was incubated with leaf extracts of various *C. japonica* cultivars, the aldehydic derivatives level was ranged to the value of the control group. Moreover, all extracts increase the aldehydic derivatives level in the extracts-treated muscle tissue (from 1.7% for *Camellia japonica* ‘C.M. Wilson’ to 5.4% for *Camellia japonica* ‘La Pace’, respectively), but these differences were not statistically significant. The crude extracts were also analyzed for their anti-oxidant efficacy by the determination of their inhibitory effect of protein oxidative damage, i.e. ketonic derivatives in the muscle tissue of the rainbow trout. Among the six plant extracts, *C. japonica* ‘La Pace’ exhibited the highest inhibitory effect (the decrease of ketonic derivatives was 28.2%,  $p < 0.05$  compared to the control group). The *C. japonica* ‘Benikarako’, *C. japonica* L. ‘Fanny Bolis’, and *C. japonica* ‘Kramer’s Supreme’, and *C. japonica* ‘C.M. Wilson’ exhibited levels of ketonic derivatives (14.44±0.66), (14.02±0.97), (13.16±0.66), (12.90±0.63) nmol per mg protein, respectively, compared to the value in the control group (14.66±0.69 nmol per mg protein), as shown in Fig. 1B. The level of ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in the sample with *C. japonica* ‘Mrs. Lyman Clarke’ was increased by 2.8% ( $p > 0.05$ ) compared to controls. The least level of ketonic derivatives is attributed to *C. japonica* ‘La Pace’ extract.

Although the precise mechanisms responsible for effects of *Camellia japonica* and its cultivars on protein oxidative damage remain to be explored more, it might be related to some components such as catechins, flavonols, phenolic acids of plant pigments. Polyphenols are a diverse group of naturally occurring compounds with different biological functions. Many polyphenols such as catechins can regulate antioxidant reactions (Tang et al., 2019; Zhao et al., 2019).

In conclusion, the present results indicate that using extracts derived from leaves of various *Camellia japonica* cultivars to incubation with the muscle tissue of rainbow trout leads to a decrease of protein oxidatively damage. To obtain further insights into this important issue, more work should also be performed to evaluate whether the *C. japonica* cultivars’ effect on different oxidative stress biomarkers in fish tissues was in a time-course manner. Based on our observations, we hypothesize that *Camellia japonica* may be used as a supplementary/dietary antioxidant agent in aquaculture for protection against complications arising from oxidative stress as it can be easily obtained and is not expensive. Furthermore, the use of such plant products as antioxidants and immunostimulants in aquaculture systems may also have environmental value because of their biodegradability.

*The authors are grateful to The Visegrad Fund for supporting our study.*

**Lukashchuk O.<sup>1,2</sup>, Ostapiv R.<sup>1,2</sup>, Samaryk V.Ya<sup>3</sup>.**

INFLUENCE OF DEXTRIN-TAURINE ASSOCIATE  
ON FREE AMINO ACID CONCENTRATION IN RAT BLOOD PLASMA

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

<sup>2</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives  
11, Donetska St., Lviv, 79019, Ukraine

<sup>3</sup>Lviv Polytechnic National University  
12, Bandera St., Lviv, 79013, Ukraine  
lukashchuk07@gmail.com

There are lots of factors that affect intestinal absorption of drugs, but it has been demonstrated that active efflux of drugs by transporters is one of the most important factors that can regulate bioavailability of drugs. Dextrin is a low-toxic transporter and can have a positive effect on the absorption of substances in blood plasma. Taurine is used as an active ingredient in drugs and supplements. Hence, taurine transport based on dextrin binding may improve its intake and absorption into blood.

As transporters modified dextrin polymers with particle size 10-80 nm (sol) and 500-800 nm (gel) were used. Experiments were performed on male 200–250 g Wistar rats. They were divided into five groups. Animals of control group received perorally water. The first experimental group rats were injected with 100 mg/kg water solution of taurine. Animals of the second (sol) and the third experimental (gel) groups were injected perorally water solution of dextrin-aurine associate in 100 mg/kg dose. Rats of the fourth experimental group were injected only with dextrin. Rats were decapitated after 30 min. Blood cells were precipitated by centrifugation, blood proteins were precipitated with 20 % water solution of sulfosalicylic acid. Amino acids were derivatized with 2,4-dinitro-1-fluoro-benzene. Amino acid separation was performed under gradient elution with HPLC Dionex, equipped with spectrophotometric detector, chromatographic column Luna C18 250×4,6 mm. Mobile phase was a mixture of 0,02 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> with pH 2.0 and acetonitrile. Elution speed was – 1 ml/min. Amino acid derivatives were detected at  $\lambda_{\text{abs}} = 350$  nm. Chromatographic parameters and statistics were analyzed by Chromeleon Software.

It turned out that peroral taurine administration increases its concentration on 33,8 % on 30 minute. Taurine concentration in the second experimental group was higher on 62,6 % than in control and on 21,6 % higher than in the first experimental group. In rat blood of the third experimental group taurine concentration was the same as in the first, and in the fourth experimental group taurine concentration was the same as in control. Increasing of taurine concentration in rat blood leads to decreasing of glutamine, histidine, methionine, aspartic and glutamic acid, lysine, alanine, valine, serin, leucine and isoleucine concentrations. Conversely, increasing of taurine concentration in rat blood leads to increasing of glycine and ornithine concentrations.

Hence, taurine concentration in rat blood of the third experimental groups was the highest, modified dextrin polymer with particle size 10-80 nm can be potentially used as a transporter.

**Makarova M.**

THE FEATURES OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM STATE  
AND ATTENTION CONCENTRATION LEVEL OF THE FIRST-YEAR STUDENTS  
WITH MILD EVENING CHRONOTYPE AND DIFFERENT STATES OF HEALTH

*V.N. Karazin Kharkiv National University  
4, Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine  
makarova.margot@gmail.com*

The students' attention state is one of the most important factors affecting the efficiency of their studying. This characteristic is known to depend on a variety of parameters. Moreover, for a first-year student it is defined not only by individual studying experience, but also by adaptive abilities of an organism. Mild evening chronotype is considered as a transitional group between distinct evening chronotype and neutral one. There is still no clear understanding if the mild evening chronotype is a separate group.

The research was conducted at the department of human and animal physiology at V.N. Karazin Kharkiv National University. The examinations were held in October and November of 2018 and 2019, on Wednesdays at 13.40. There were no tests, practical or laboratory classes in the curriculum. 34 first-year students of the biological faculty at V.N. Karazin Kharkiv National University were examined. All of them had mild evening chronotype.

The chronotype has been assessed with the Ostberg questionnaire modified by S.I. Stepanova (Степанова, 1989), the state of the autonomic nervous system has been assessed with the Teslenko "sitting-standing" test (Черкасова, 2010), the state of attention has been assessed with the Burdon-Anfimov test (Андронникова, 2011).

At first, all students have been divided into two groups based on the state of their health. There are 20 healthy students and 14 students with chronic diseases. The normality of data distribution has been checked with the Shapiro-Wilk test. As these groups are small, the non-parametric statistical criteria have been used for the analysis, namely the *U* Mann-Whitney test and the Spearman correlation coefficient. The statistical analysis has been conducted in RStudio, R version 3.6.2 (Майборода, 2019). The statistical criteria have been calculated according to the 95 % level of significance.

Using the Teslenko test, the following coefficients have been obtained: healthy students  $3,35 \pm 0,67$  before the attention test and  $3,50 \pm 0,61$  after; students with chronic diseases  $3,43 \pm 0,85$  before the attention test and  $3,21 \pm 0,7$  after. That means that the autonomic nervous system state of all participants has been quite close to the balance between sympathetic and parasympathetic divisions. There are no statistically significant differences in the autonomic nervous system state between the groups. The attention accuracy, the levels of both the attention concentration and the attention productivity have been assessed as high for the 90 % of the participants. There are no statistically significant differences in those parameters between the groups.

For the group of healthy students, two association bonds have been identified, namely backward bonds of low density between the autonomic nervous system state and the attention concentration and between the autonomic nervous system state and the attention productivity ( $r = -0,30$  and  $r = -0,31$ , respectively). For the group of students with chronic diseases, three association bonds have been identified, namely backward bonds of medium density between the autonomic nervous system state and the attention accuracy, between the autonomic nervous system state and the attention productivity ( $r = -0,45$  and  $r = -0,40$ , respectively), and a backward bond of low density between the autonomic nervous system state and the attention concentration ( $r = -0,39$ ).

To sum up, in the given research conditions the examined students with mild evening chronotype have had the balanced state of the autonomic nervous system regardless of the state of their health. It should be mentioned, that both groups of students with mild evening chronotype have quite similar characteristics, both the attention concentration and the state of autonomic nervous system.

Scientific supervisor – Koba L.V., Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Human and Animal Physiology, V.N. Karazin Kharkiv National University

**Maryniuk M.<sup>1</sup>, Opryshko M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>1</sup>**

OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE EQUINE BLOOD  
AFTER *IN VITRO* TREATMENT WITH *SANSEVIERIA CAULESCENS* N.E.BR. EXTRACT

*<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine*

*<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Many medicinal plants have been investigated for their beneficial use as antioxidants or sources of antioxidants using presently available experimental techniques (Dkhil et al., 2016; Xiao et al., 2018). In the current study, attention was focused on *Sansevieria* Thunb., a genus with diverse ethnobotanical uses in its geographical distribution range,

which occupies an important place among plant genera applied for the treatment of a broad spectrum of diseases and disorders (Watt and Breyer-Brandwijk, 1962; Khalumba et al., 2005; Kiringe, 2006; Buyun et al., 2016; Karamova et al., 2016; Maryniuk et al., 2017-2019).

The erythrocytes of mammals represent a good model to evaluate the cytotoxicity of molecules, organic and inorganic, natural or synthetic, by cellular damage measure (Pagano and Faggio, 2015). Additionally, the high concentration of polyunsaturated fatty acids in RBCs membrane, the high oxygen tension, and redox-active hemoglobin molecules [the source of reactive oxygen species in erythrocyte] make them a good biological lipid membrane model especially for screening the oxidative stress conditions induced by various substances (Farag and Alagawany, 2018).

Therefore, the main goal of the present study was to evaluate the level of the 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as lipid peroxidation biomarker, aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins, and total antioxidant capacity in the equine erythrocytes' suspension induced by treatment of leaf extracts obtained from *Sansevieria caulescens* N.E.Br.

The leaves of *Sansevieria caulescens* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine. Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (1:19, w/w) at room temperature. The extract was then filtered and investigated for its antioxidant capacity. The extract was stored at -20°C until use.

Eighteen healthy adult horses from the central Pomeranian region in Poland (village Strzelinko, N54°30'48.0" E16°57'44.9"), aged 8.9 ± 1.3 years old, including 6 Hucul pony, 5 Thoroughbred horses, 2 Anglo-Arabian horses and 5 horses of unknown breed, were used in this study. All horses participated in recreational horseback riding. Horses were housed in individual boxes, with feeding (hay and oat) provided twice a day, at 08.00 and 18.00 h, and water available *ad libitum*. All horses were thoroughly examined clinically and screened for hematological, biochemical and vital parameters, which were within reference ranges. The females were non-pregnant.

Blood samples were taken simultaneously in all horses from the jugular vein in the morning, 90 minutes after feeding, while the horses were in the stables (between 8:30 and 10 AM). Whole blood was stored in sterile tubes with sodium citrate as the anticoagulant and held on the ice until centrifugation at 3,000 rpm for 5 min at 4°C using a refrigerated centrifuge to remove plasma. The separated erythrocytes were washed three times in 4mM phosphate buffer saline (PBS), pH 7.4. After centrifugation, the supernatant and the buffy coat were carefully removed with each wash. Washed erythrocytes were finally re-suspended to the desired hematocrit level in 4mM PBS. The erythrocytes were stored at 4°C and used within 2 h of sample preparation. A volume of 0.1 ml of the extract was added to 1.9 mL of clean equine erythrocyte suspension. For positive control, PBS was used. After incubation of the mixture at 37°C for 60 min with continuous stirring, it was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Erythrocytes aliquots were used in the study.

The most important product of lipid peroxidation reacting with 2-thiobarbituric acid (TBA) is malonic dialdehyde (MDA) (Lykkesfeldt, 2007). Therefore, the lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of TBARS by Kamyshnikov (2004) for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration. To evaluate the protective effects of the extract against free radical-induced protein damage, a carbonyl derivatives content of protein oxidative modification (OMP) assay based on the spectrophotometric measurement of aldehydic and ketonic derivatives in the samples was performed. The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNFH) as described by Levine and co-workers (1990) and as modified by Dubinina and co-workers (1995). The TAC level in the sample was estimated by measuring the 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level after Tween 80 oxidation. This level was determined spectrophotometrically at 532 nm (Galaktionova et al., 1998). The mean ± the standard error of the mean (S.E.M.) values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). To find significant differences (significance level,  $p < 0.05$ ) between groups, the Mann-Whitney *U* test by ranks was applied to the data (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

In a present study, we have studied the influence of extracts derived from leaves of *S. caulescens* on the TBARS level as biomarker of lipid peroxidation, aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins and the total antioxidant capacity in the equine erythrocytes' suspension after incubation with the extract obtained from leaves of *S. caulescens* *in vitro* culture. There were no significant changes for TBARS level between the value in the control group and in the equine erythrocytes' suspension after incubation with extracts derived from leaves of *S. caulescens* (35.88 ± 3.02 μmol/L vs. 35.04 ± 2.31 μmol/L).

Similarly, the level of aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins was non-significantly changed in the equine erythrocytes' suspension incubated with an extract obtained from the leaves of *S. caulescens* (31.16 ± 1.89 nmol/mL vs. 29.77 ± 1.17 nmol/mL for aldehydic derivatives, 39.47 ± 2.20 nmol/mL vs. 36.75 ± 1.73 nmol/mL for ketonic derivatives of oxidatively modified proteins).

The total antioxidant capacity (TAC) determines the ability of a tested material to neutralize oxygen-free radical specific form, irrespectively to the specific antioxidant activity of present antioxidants (Wang et al., 1997). Our results showed that extract of *S. caulescens* efficiently increased the TAC level by 1% ( $p > 0.05$ ) due to inhibited the Fe<sup>2+</sup>/ascorbate-induced oxidation of Tween 80, resulting in a decrease in the TBARS level.



Taking into account existing experimental evidence, it is reasonable to assume that secondary plant metabolites, i.e. polyphenolic compounds in the extract of *Sansevieria caulescens* may contribute to the antioxidant activity. In conclusion, the antioxidative and prooxidative mechanism of various *Sansevieria* species in equine erythrocyte suspension will be further studied in detail. The obtained information may be useful in the clinical usage of plants in medicine and veterinary. Finally, these findings justify the traditional uses of *Sansevieria* plants for therapeutic purposes.

*The authors are grateful to The Visegrad Fund for supporting our study*

**Opryshko M.<sup>1</sup>, Maryniuk M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Buyun L.<sup>1</sup>**

**OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE EQUINE ERYTHROCYTES  
BY TREATMENT OF EXTRACT OBTAINED FROM *BEGONIA SANGUINEA* RADDI LEAVES**

<sup>1</sup>M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine  
Tymiryazevska Str., 1, Kyiv, 01014, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

The study of antioxidant defenses of the plants is essential for evaluating and improving human and animal health. Plants synthesize various low molecular weight compounds with antioxidant properties (Brainina et al., 2019). Plant secondary metabolites are well known for their antioxidant properties. Antioxidants are micronutrients possessing the potential to either scavenge reactive oxygen species (ROS) directly or prevent their generation.

*Begonia* L. is a mega-diverse genus containing more than 1800 species, with a very high proportion of microendemism and hotspots of diversity in the Andes and Southeast Asia (Hughes et al., 2018). The first living plant in *Begonia* was introduced to Europe during the eighteenth century, and thereafter over 400 natural species have been introduced for horticulture and many cultivars have been developed (Tebbitt, 2005). They are used as garden plants and potted plants, in hanging baskets, and as greenhouse flowers, as well as potherbs or leaf vegetables in many parts of the world. The roots and tubers of some species have been reported to possess antimicrobial activities and are used to treat various ailments (Sakhanokho et al., 2013).

In the current study, a crude water extract from the leaves of *Begonia sanguinea* Raddi was assessed for antioxidant activities using the oxidative stress biomarkers (2-thiobarbituric acid reacting substances as a biomarker of lipid peroxidation, carbonyl derivatives as biomarkers of protein oxidative modification, the total antioxidant capacity) in the equine erythrocytes' model.

The leaves of *B. sanguinea* Raddi plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine. Our current scientific project has been undertaken in the frame of the cooperation program between the Institute of Biology and Earth Sciences (Pomeranian University in Slupsk, Poland) and NBG, aimed at assessment of medicinal properties of tropical plants has encompassed some tropical mega-diverse genera, including genus *Begonia* with a near pantropical distribution.

Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in ratio 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -20°C until use.

Eighteen healthy adult horses from the central Pomeranian region in Poland (village Strzelinko, N54°30'48.0" E16°57'44.9"), aged 8.9 ± 1.3 years old, including 6 Hucul ponies, 5 Thoroughbred horses, 2 Anglo-Arabian horses and 5 horses of unknown breed, were used in this study. All horses participated in recreational horseback riding. Horses were housed in individual boxes, with feeding (hay and oat) provided twice a day, at 08.00 and 18.00 h, and water available *ad libitum*. All horses were thoroughly examined clinically and screened for hematological, biochemical and vital parameters that were in the reference ranges. The females were non-pregnant.

Blood was drawn from the jugular vein of the animals in the morning, 90 minutes after feeding, while the horses were in the stables (between 8:30 and 10 AM). Blood was stored in tubes with sodium citrate as the anticoagulant and held on the ice until centrifugation at 3000 rpm for 5 min to remove plasma. The pellet of blood was resuspended in 4 mM phosphate buffer (pH 7.4). A volume of 0.1 ml of the plant extract was added to 1.9 ml of clean equine erythrocytes or 1.9 ml of plasma. For positive control, phosphate buffer was used. After incubation of the mixture at 37°C for 60 min with continuous stirring, it was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Erythrocytes aliquots were used in the study.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyschnikov (2004) method for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration. This method is based on the reaction of the degradation of the lipid peroxidation product, MDA, with TBA under high temperature and acidity to generate a colored adduct that is measured spectrophotometrically.

To evaluate the protective effects of the extract against free radical-induced protein damage in equine erythrocytes, a carbonyl derivatives content of protein oxidative modification (OMP) assay based on the spectrophotometric measurement of aldehydic and ketonic derivatives in the erythrocytes' suspension was performed. The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNFH) as described by Levine and co-workers (1990) and as modified by Dubinina and co-workers (1995).

The total antioxidant capacity (TAC) level in the sample was estimated by measuring the 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) level after Tween 80 oxidation. This level was determined spectrophotometrically at 532 nm (Galaktionova et al., 1998).

The mean  $\pm$  S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the parameters (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Mann-Whitney *U* test (Zar, 1999). All statistical calculation was performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

The extract influence during incubation with erythrocyte suspension caused a non-considerable decrease of TBARS level (by 10 %,  $p > 0.05$ ), as well as the content of aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins was decreased (by 9.9 and 12.7 %,  $p > 0.05$ , respectively) compared to control sample. Interestingly, the decrease of the oxidative stress biomarkers was caused by statistically significant TAC enhancement by 48.9 % ( $p < 0.05$ ).

Many studies have suggested that plant secondary metabolites obtained from *Begoniaceae* representatives are responsible for their antioxidant activity. Literature data confirmed that extracts from various parts of the *Begonia* plants exhibited strong antioxidant properties, effectively deactivating the stable, synthetic DPPH radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). For example, Indrakumar and co-workers (2014) have evaluated the antimicrobial and *in vitro* antioxidant potential of extracts of *B. dipetala*. The DPPH radical scavenging activity was higher (93.3 %) when the concentration was increased. The reducing power of the extract increased with the increasing concentration. The *in vitro* antioxidant studies indicate that the ethanolic extract of *B. dipetala* has significant antioxidant activity (Indrakumar et al., 2014).

The results of this research indicated that crude extract obtained from *B. sanguinea* leaves has an effective antioxidant effect after the treatment of a suspension of equine erythrocytes lysed. The protective effect of *B. sanguinea* extract is evident by amelioration in the increase of total antioxidant capacity with suppression of lipid peroxidation biomarker (TBARS level), as well as aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins. The pronounced effect of *B. sanguinea* leaf extract, probably, could be attributed to its secondary metabolites content, e.g. polyphenols and flavonoids contents. Further investigations need to be carried out to isolate and identify the antioxidant compounds present in the plant extract.

The authors are grateful to The Visegrad Fund for supporting our study.

**Palubicka A., Nyc W., Jarzyńska N., Detlaff A., Skrzypkowski K., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

#### ANTI-HEMOLYTIC ACTIVITY OF *THYMUS* ESSENTIAL OIL USING HUMAN ERYTHROCYTES MODEL

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk*

*Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

The genus *Thymus* consists of approximately 215 species currently recognized (Morales 2002). It is one of the most widely used genera in folk medicine, where it is popular for its stimulatory action on all organism functions (Viuda-Martos et al. 2011). Many species of this genus are used in traditional medicine as tonics, carminatives, antitussives, aromatic, expectorant, stomachic, antispasmodic, bronchospasmolytic, diuretic, sedative, diaphoretic, and antiseptics, as well as anti-inflammatory, antioxidant, anthelmintic, hepatoprotective and antitumor agents (Khan and Abourashed 2010, Nabavi et al. 2015). Internally, thyme is used for treatment of acute bronchitis, laryngitis, whooping cough, chronic gastritis, diarrhea, and lack of appetite, while externally in baths to treat rheumatic and skin problems (bruises, sprains, fungal infections) as well as for minor arthritis, gum disease, tonsillitis, etc. (Khan and Abourashed 2010). Thymol, and its main natural source, thyme (*Th. vulgaris*), are employed for their positive antioxidant, anti-inflammatory, local anesthetic, antinociceptive, cicatrizing, antiseptic, antibacterial, and antifungal properties as well as for their beneficial effects on the cardiovascular system (Marchese et al. 2016).

The main objective of this study was the dose-dependent antihemolytic characterization of thymus essential oil (TEO) using a human erythrocyte model.

The venous blood (10–20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture (7 females aged 23–36-years old). The Research Ethics Committee of Regional Medical Chamber in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4 °C were used within 6 h of sample preparation. The blood sample (4.9 mL, 4.95 mL, and 4.99 mL, respectively) was incubated with 0.1, 0.05, and 0.01 mL of TEO (Etja, Elbląg, Poland), respectively (final concentrations were 20, 10, and 5  $\mu$ g/mL) at 25°C for 15 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 25°C. Samples were removed at 20 min of storage for analysis. The untreated erythrocyte samples were used as the control sample.

The osmotic-induced hemolysis of erythrocytes was measured spectrophotometrically with different 0.1-0.9% NaCl solutions (Mariańska et al., 2013). The assay is based on the measuring of the percent of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action (0.1-0.9% NaCl). The assay mixture contained 2.5 mL of NaCl solutions and 0.05 mL of 1% erythrocyte suspension. The absorbance was read at 540 nm. The absorbance of the samples contained erythrocytes

with distilled water was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) at different NaCl solutions was expressed as a curve. All statistical calculations were performed on separate data from each individual with STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

TTO in final concentration 20 µg/mL caused a significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 13.3% vs. 4.1% (0.9% NaCl), 15.4% vs. 4.3% (0.8% NaCl), 16.7% vs. 5.6% (0.7% NaCl), 17.8% vs. 5.7% (0.6% NaCl), and 58% vs. 18.2% (0.5% NaCl). The increase of hemolysis was 3.3-fold (0.9% NaCl), 3.6-fold (0.8% NaCl), 3-fold (0.7% NaCl), 3.1-fold (0.6% NaCl), 3.2-fold (0.5% NaCl), respectively. After incubation in solutions of 0.4%-0.1% NaCl, adding of TEO to the human erythrocytes caused the decrease of hemolysis (by 14.9%, 10.5%, 7.1%, and 4.7%, respectively).

Treatment of the human erythrocytes by TEA in final concentration 10 µg/mL caused a statistically significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.6% NaCl solutions: 5.8% vs. 1.2% (0.9% NaCl), 6.9% vs. 1.2% (0.8% NaCl), 9.3% vs. 1.5% (0.7% NaCl), and 13.3% vs. 2% (0.6% NaCl). The increase of hemolysis was 4.8-fold (0.9% NaCl), 5.6-fold (0.8% NaCl), 6.4-fold (0.7% NaCl), and 6.8-fold (0.6% NaCl), respectively. In the sample with 0.5-0.1% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding TEO to the erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (decrease of hemolysis by 2.5%, 3.3%, 2.9%, and 0.1%). In the sample with 0.5-0.1% NaCl, TEO in final concentration 10 µg/mL exhibited anti-hemolytic activity after the treatment of human erythrocytes.

TTO in final concentration 5 µg/mL incubated with human erythrocytes exhibited anti-hemolytic activity. In the sample with 0.9-0.6% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding the TEO to the human erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (3.9%, 4.1%, 4.3%, and 4.6%, vs. 2.73%, 2.97%, 3.1%, and 3.33%, respectively). Incubation of human erythrocytes with TEO in final concentration 5 µg/mL caused a significant decrease of hemolysis in the samples with 0.5-0.1% NaCl solutions: 15.7% vs. 19.1% (0.5% NaCl), 82.9% vs. 93.5% (0.4% NaCl), 84.1% vs. 96.3% (0.3% NaCl), 95.2% vs. 99.2% (0.2% NaCl), and 98.6% vs. 99.5% (0.1% NaCl).

TEO included in this study possessed good anti-hemolytic activities using the human erythrocytes model. The interest in the formulation of pharmaceuticals, nutraceuticals, and cosmeceuticals based on thymol is due to several studies that have evaluated the potential therapeutic uses of this compound for the treatment of disorders affecting the respiratory, nervous, and cardiovascular systems. Moreover, this compound also exhibits antimicrobial, antioxidant, anti-carcinogenesis, anti-inflammatory, and antispasmodic activities, as well as a potential as a growth enhancer and immunomodulator (Salehi et al., 2018).

The anti-hemolytic activity of the TEO may be attributed to a specific compound or a combination of compounds. The knowledge about the chemical profile of the TEO helps in explaining the observed activity and designing experiments for activity fractionation for isolation of the active principle. The identification of precise molecular mechanisms addressing how TEO exhibited anti-hemolytic activities needs to be explored. The present study lays the basis for future research, to validate the possible use of *Thymus* species and TEO as candidates with antioxidant activity.

**Pawlicka K., Firlong O., Malek A., Jarzyńska N., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

ANTI-HEMOLYTIC EFFECT OF CINNAMON ESSENTIAL OIL  
USING A MODEL OF HUMAN ERYTHROCYTES

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Lauraceae*) is a food additive greatly used for its taste. However, recently this medicinal plant has been brought to attention due to its medical effects (Dorri et al., 2018). In traditional medicine Cinnamon is considered a remedy for respiratory, digestive and gynecological ailments. *In vitro* and *in vivo* studies from different parts of the world have demonstrated numerous beneficial medicinal effects of *C. zeylanicum*, including antioxidant and free-radical scavenging properties, lowering of blood glucose, anti-cholesterolemic, analgesic, antimicrobial, anti-inflammatory, anti-yeast, anti-secretagogue, and anti-gastric ulcer effects (Dorri et al., 2018). (Ranasinghe et al., 2013; Dorri et al., 2018). Cinnamon has constituents such as cinnamaldehyde and cinnamic acid while the cinnamon bark essential oil (EO) exhibited a wide range of total phenolic contents, total flavonoid contents, reducing power, inhibition of linoleic acid peroxidation and DPPH radical-scavenging activity (Saleem et al., 2015). Having a high cytotoxicity cell line effect, *C. zeylanicum* EO offers a novel approach to chemotherapy treatment (Kallel et al., 2019).

The current study aimed to assess possible anti-hemolytic effects of cinnamon EO (Etja, Elbląg, Poland) using osmotic-induced hemolysis assay on human erythrocytes' model after incubation with cinnamon EO (CEO) in final concentration 20, 10, and 5 µg/mL.

The venous blood (10–20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture (7 females aged 23–36-years old). The Research Ethics Committee of Regional Medical Chamber in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate

buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4 °C were used within 6 h of sample preparation. The blood sample (4.9 mL, 4.95 mL, and 4.99 mL, respectively) was incubated with 0.1, 0.05, and 0.01 mL of CEO, respectively (final concentration was 20, 10, and 5 µg/mL) at 25 °C for 15 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 25 °C. Samples were removed at 20 min of storage for analysis. The untreated erythrocyte samples were used as the control sample.

The osmotic-induced hemolysis of erythrocytes was measured spectrophotometrically with different 0.1-0.9% NaCl solutions (Mariańska et al., 2013). The assay is based on the measuring of the percent of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action (0.1-0.9% NaCl). The assay mixture contained 2.5 mL of NaCl solutions and 0.05 mL of 1% erythrocyte suspension. The absorbance was read at 540 nm. The absorbance of the samples contained erythrocytes with distilled water was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) at different NaCl solutions was expressed as a curve. All statistical calculations were performed on separate data from each individual with STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Adding of CEO in final concentration 20 µg/mL to the erythrocytes caused a statistically significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 84.8% vs. 4.1% (0.9% NaCl), 86.2% vs. 4.3% (0.8% NaCl), 86.2% vs. 5.6% (0.7% NaCl), 90.7% vs. 5.7% (0.6% NaCl), and 94.4% vs. 18.2% (0.5% NaCl). The increase of hemolysis was 20.8-fold (0.9% NaCl), 20-fold (0.8% NaCl), 15.4-fold (0.7% NaCl), 15.9-fold (0.6% NaCl), 5.2-fold (0.5% NaCl), respectively. In the sample with 0.3-0.1% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding CEO to the erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (94.5%-98.9% vs. 98.4%-99.3%).

Incubation of human erythrocytes with CEO in final concentration 10 µg/mL caused a significant increase of hemolysis in the samples with 0.9-0.5% NaCl solutions: 21.1% vs. 1.23% (0.9% NaCl), 21.6% vs. 1.23% (0.8% NaCl), 37.4% vs. 1.5% (0.7% NaCl), 38.4% vs. 1.97% (0.6% NaCl), and 39% vs. 22.7% (0.5% NaCl). The increase of hemolysis was 17.2-fold (0.9% NaCl), 17.6-fold (0.8% NaCl), 25.4-fold (0.7% NaCl), 19.6-fold (0.6% NaCl), 1.7-fold (0.5% NaCl), respectively. After incubation in solutions of 0.4%-0.1% NaCl, adding of CEO to the erythrocytes caused an increase of hemolysis (44.5%-50% vs. 98.4%-99.3%).

Incubation of human erythrocytes with CEO in final concentration 5 µg/mL caused an anti-hemolytic effects. In the sample with 0.9-0.5% NaCl, a difference between the percentage of hemolysis in samples after adding the CEO to the erythrocytes compared to the untreated samples was non-significant (1.46%, 1.53%, 2.12%, 2.74% and 1% vs. 2.73%, 2.97%, 3.1%, 3.33%, and 19.14%, respectively). Incubation of human erythrocytes with CEO in final concentration 5 µg/mL caused a significant decrease of hemolysis in the samples with 0.4-0.1% NaCl solutions: 83.6% vs. 93.5% (0.4% NaCl), 83.8% vs. 96.3% (0.3% NaCl), 91.8% vs. 99.2% (0.2% NaCl), and 94.4% vs. 99.5% (0.1% NaCl). The decrease of hemolysis was 10.6% (0.4% NaCl), 13% (0.3% NaCl), 7.5% (0.2% NaCl), and 5.1% (0.1% NaCl), respectively.

We evidenced that the CEO dampened human erythrocytes damage in the final concentration of 5 µg/mL *in vitro* model. Investigations are needed to ascertain CEO constituents to describe the actions of each derivative exclusively. Various components of *C. zeylanicum* have been identified, include flavonoids, saponins, tannins, alkaloids, terpenoids and phenols (Eidi et al., 2012). In our next study, we will identify the important CEO-derived components and use them for *in vitro* evaluation. It is plausible to use cinnamon in drug-induced and other oxidative stress-mediated toxicities in the future.

**Prokopiv A.<sup>1,2</sup>, Honcharenko V.<sup>1</sup>, Sosnovsky Y.<sup>2</sup>, Nachychko V.<sup>1,2</sup>, Tkachenko H.<sup>3</sup>,  
Kurhaluk N.<sup>3</sup>, Osadowski Z.<sup>3</sup>**

DOSE-DEPENDENT HEMOLYSIS OF THE HUMAN ERYTHROCYTES  
AFTER *IN VITRO* TREATMENT BY LEAF EXTRACT OBTAINED  
FROM *RHODODENDRON MYRTIFOLIUM* SCHOTT & KOTSCHY (ERICACEAE)

<sup>1</sup>Department of Botany, Faculty of Biology, Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005. Ukraine

<sup>2</sup>Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine

<sup>3</sup>Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl

Determination of cellular toxicity of a drug towards human erythrocytes is the basic step of drug development against any particular disease. Hemolytic assays for the plant extracts were carried out because compounds possessing potent biological activity may not be appropriate in pharmacological preparations if they have hemolytic effects. This assay is usually used to check the biocompatibility of potential drug against erythrocytes in which the interaction of molecules with the cells (RBCs) results in the formation of pores in the membrane that ultimately leads to the release of hemoglobin (Mishra et al., 1981; Lieber et al., 1984; Katsu et al., 1986; Baumann et al., 2000). In the current study, the *in vitro* hemolytic activity of *Rhododendron myrtifolium* Schott & Kotschy extract in three different doses on human erythrocytes was evaluated.

*R. myrtifolium* is an evergreen clump-forming dwarf shrub up to 50 cm in height, occurring in high-mountain habitats of the eastern and southern Carpathian Mountains and northern Balkans, largely within altitudes of 1400–2500 m. The species is featured in small narrowly elliptic to obovate coriaceous leaves abaxially covered with glandular scales containing essential oils, terminal inflorescences of tubular-campanulate pinkish flowers, and long-pedunculate dry multilocular capsules containing numerous diminutive seeds (Cullen, 1980, 2005; Mircea, 2005; Boratyński et al., 2006; Voloschuk and Prokopiv, 2011). Although endangered in countries of its distribution, *R. myrtifolium* has been used in folk medicine for the preparation of herbal teas (Dihoru and Boruz, 2014; Nedelcheva and Draganov, 2014) and presents a major touristic attraction during its mass flowering period in mountains (Rivers, 2017). Its evolutionary closest relatives, *R. ferrugineum* L. and *R. hirsutum* L. (Sosnovsky et al., 2017) have been shown to possess cytotoxic, antibacterial, and antiviral effects of their extracts (Louis et al., 2010; Gescher et al., 2011; Seephonkai et al., 2011; Rezk et al., 2015), while the biochemical features and bioactive potentials of *R. myrtifolium* remain unexplored.

We continue to assess the dose-dependent antioxidant potential of crude aqueous extracts from the leaves of *R. myrtifolium* sampled in the western part of Ukraine using a human erythrocytes' model. The current study aimed to assess possible anti-hemolytic effects of an extract derived from *R. myrtifolium* leaves using HCl-induced hemolysis assay on human erythrocytes' model after incubation with plant extracts in three doses (5 mg/mL, 2.5 mg/mL, and 1.25 mg/mL). The total hemolysis (%) was obtained using 0.1M HCl compared to the phosphate saline buffer as a control sample.

Leaves of *Rhododendron myrtifolium* were harvested on the side of the road between the Menchul valley and Rogneska valley (Kvasy village, Rakhiv district, Zakarpattia region, Ukraine; N 48°09'28.4", E 24°20'05.6", 1485 m a.s.l.). Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -20°C until use.

Blood (10–20 ml) was obtained from normal volunteers *via* venipuncture (4 males and 5 females aged 28–53-years old). The Research Ethics Committee of Regional Medical Hospital in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Human erythrocytes from citrated blood were isolated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and washed two times with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then re-suspended using the same buffer to the desired hematocrit level. Cells stored at 4 °C were used within 6 h of sample preparation. An erythrocytes' suspension at 1 % hematocrit was incubated with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) (control) and pre-incubated with the extracts (5 mg/mL, 2.5 mg/mL, and 1.25 mg/mL, respectively) at 37 °C for 60 min. This reaction mixture was shaken gently while being incubated for a fixed interval at 37 °C. For positive control (phosphate buffer) was used. Erythrocytes' aliquots were used in the study.

The acid-induced hemolysis of erythrocytes was measured spectrophotometrically with 0.1M HCl (Terskov and Gitelson, 1957). The assay is based on the measuring of the dynamics of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action. The time of hemolytic reagent action serves as the measure of erythrocyte resistance. The assay mixture contained 5 mL of 1% erythrocyte suspension and 0.05 mL of 0.1M HCl. The absorbance was read at 540 nm every 30 seconds after HCl addition till the end of hemolysis. The difference of absorbance at the beginning and the end of hemolysis was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) every 30 seconds was expressed as a curve.

The smears were fixed by dipping the slides in absolute methanol, allowing them to air-dry, and then staining with May-Grunwald solution for 5 min, followed by 6% Giemsa stain for 15 min. Slides were selected based on staining quality. In each group, 10,000 cells (minimum of 1,000 per slide) were examined under a 40× objective with a 10× eyepiece (Microscope Leica DM300) to identify morphologically-altered erythrocytes in separate studies.

The mean ± S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the total antioxidant capacity level (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Mann-Whitney *U* test (Zar, 1999). All statistical calculations were performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

In the control group (untreated erythrocytes' suspension), erythrocytes incubated with 0.1M HCl remained stable and demonstrated slight hemolysis. The maximum level of hemolysis was  $(12.17 \pm 1.02) \%$ ; the total duration of hemolysis was 15.0 min. When *R. myrtifolium* extract (5 mg/mL) was added to the erythrocytes' suspension, the maximum level of hemolysis has occurred after 0.5 min of incubation with 0.1M HCl  $(16.0 \pm 1.11 \%)$ . The total duration of hemolysis after *R. myrtifolium* extract incubation was 10.0 min. At the concentration of *R. myrtifolium* extract of 2.5 mg/mL, it decreased the hemolysis (the maximum % of hemolysis was  $13.6 \pm 0.98\%$  at 6.0 min, the total duration of hemolysis was 9.5 min). Interestingly, *R. myrtifolium* extract at 1.25 mg/mL caused the highest % of hemolyzed erythrocytes (the maximum % of hemolysis was  $22.9 \pm 2.32\%$  at 4.5 min, the total duration of hemolysis was 6.5 min). Therefore, we selected *R. myrtifolium* extract at a concentration of 2.5 mg/mL for the next study. The results showed that HCl-induced hemolysis was increased by the treatment of *R. myrtifolium* extract at different doses. The untreated erythrocytes are a normal biconcave shape. After exposure to *R. myrtifolium* extract in dose 5 mg/mL, protuberances and ruffled edges on erythrocytes were noted. No changes in the size and shape of cells, as well as protuberances on their surfaces, were demonstrated after exposure to *R. myrtifolium* extract in both doses 2.5 mg/mL and 1.25 mg/mL.

Our results revealed that the treatment of human erythrocytes by extract derived from *R. myrtifolium* leaves in dose 5 mg/mL caused the protuberances and ruffled edges on erythrocytes. On the other hand, *R. myrtifolium* extract at 1.25 mg/mL caused the highest percent of hemolyzed erythrocytes and decrease hemolysis duration. This study demonstrated, that among the leaf extract of *R. myrtifolium*, the dose of 5 mg/mL exhibited the morphological changes in the human erythrocytes. Also, the study demonstrated that *R. myrtifolium* leaf extract at dose 1.25 mg/mL possessed hemolytic effect *in vitro* compared to other doses studied. Therefore, further investigation of it's *in vitro* and *in vivo* activity is warranted.

*This study was supported by The Polish National Agency for Academic Exchange, and we thank them for their assistance in our study.*

**Prokopiv A.<sup>1,2</sup>, Honcharenko V.<sup>1</sup>, Sosnovsky Y.<sup>2</sup>, Nachychko V.<sup>1,2</sup>, Tkachenko H.<sup>3</sup>,  
Kurhaluk N.<sup>3</sup>, Osadowski Z.<sup>3</sup>**

HCL-INDUCED HEMOLYSIS OF THE EQUINE ERYTHROCYTES  
AFTER *IN VITRO* INCUBATION WITH LEAF EXTRACT OBTAINED  
FROM *RHODODENDRON MYRTIFOLIUM* SCHOTT & KOTSCHY (ERICACEAE)

<sup>1</sup>*Department of Botany, Faculty of Biology, Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Hrushevsky Str., 4, Lviv-5, 79005. Ukraine*

<sup>2</sup>*Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine  
Cheremshyna Str., 44, Lviv, 79014, Ukraine*

<sup>3</sup>*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

The genus *Rhododendron* L. (Ericaceae) is one of the most species-rich among angiosperms, comprising over 1,000 species spreading across the northern hemisphere and with the center of diversity in southeastern Asia (Irving and Hebda, 1993). This genus is a rich source of phenolic compounds, especially flavonoids, essential oils, chromones, terpenoids, and steroids. It has many biological properties such as antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, anticancer, antidiabetic, immunomodulatory, cardioprotective and hepatoprotective among others due to their polyphenolic constituents (Demir et al., 2016). *In vivo* and *in vitro* testing of plant extracts and isolated compounds determined diverse biological activities including anti-inflammatory, analgesic, anti-microbial, anti-diabetic, insecticidal and cytotoxic activity (Popescu and Kopp, 2013).

In the current study crude aqueous extract from the leaves of *R. myrtifolium* was assessed for antioxidant activities, cytotoxicity, and anti-hemolytic potential. This study aimed to assess possible antioxidant and anti-hemolytic effects of an extract derived from *R. myrtifolium* leaves using HCl-induced hemolysis assay on equine erythrocytes' model.

The erythrocytes of mammals represent a good model to evaluate the cytotoxicity of molecules, organic and inorganic, natural or synthetic, by cellular damage measure (Pagano and Faggio, 2015). Erythrocytes are especially vulnerable since they have no membrane repair and regenerative capacity (Webster and Toothill, 1987) and red cell damages by free radicals would probably be associated with hemolysis (Pagano and Faggio, 2015; Farag and Alagawany, 2018). Red blood cells along with its membrane have always been an important medium for the study due to the important role it plays in varied physiological and metabolic processes (Jha et al., 2009; Karabulut et al., 2009; Pandey et al., 2009). The erythrocyte could be isolated and handled easily so that they could provide a good model for many assays (Alagawany et al., 2016; Farag and Alagawany, 2018). Additionally, the high concentration of polyunsaturated fatty acids in RBCs membrane, the high oxygen tension, and redox-active hemoglobin molecules [the source of reactive oxygen species (ROS) in erythrocyte] make them a good biological lipid membrane model especially for screening the oxidative stress conditions induced by various substances (Farag and Alagawany, 2018).

Leaves of *Rhododendron myrtifolium* were harvested on the side of the road between the Menchul valley and Rogneska valley (Kvasy village, Rakhiv district, Zakarpattia region, Ukraine; N 48°09'28.4", E 24°20'05.6", 1485 m a.s.l.). Plant samples were thoroughly washed to remove all the attached materials and used to prepare the ethanolic extract.

Freshly collected leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in proportion 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -20°C until use.

Eighteen clinically healthy adult horses from the central Pomeranian region in Poland (village Strzelinko, N54°30'48.0" E16°57'44.9"), aged 8.9 ±1.3 years old, including 6 Hucul pony, 5 Thoroughbred horses, 2 Anglo-Arabian horses and 5 horses of unknown breed, were used in this study. All horses participated in recreational horseback riding. Horses were housed in individual boxes, with feeding (hay and oat) provided twice a day, at 08.00 and 18.00 h, and water available *ad libitum*. Before sampling, all horses were thoroughly examined clinically by a veterinarian and screened for hematological, biochemical and vital parameters, which were within reference ranges. The females were non-pregnant.

Blood samples were collected in the morning, 90 minutes after feeding, while the horses were in the stables (between 8:30 and 10 AM) by jugular venipuncture into tubes with sodium citrate as the anticoagulant and held on

the ice until centrifugation at 3,000 rpm for 5 min to remove plasma. Blood was stored into The pellet of blood was resuspended in 4 mM phosphate buffer (pH 7.4). A volume of 0.1 ml of the plant extract was added to 1.9 ml of clean equine erythrocytes. For positive control, phosphate buffer was used. After incubation of the mixture at 37 °C for 60 min with continuous stirring, it was centrifuged at 3,000 rpm for 5 min. Erythrocytes aliquots were used in the study.

The acid-induced hemolysis of erythrocytes was measured spectrophotometrically with 0.1M HCl (Terskov and Gitelson, 1957). The assay is based on the measuring of the dynamics of erythrocytes disintegration into hemolytic reagent action. The time of hemolytic reagent action serves as the measure of erythrocyte resistance. The assay mixture contained 5 mL of 1% erythrocyte suspension and 0.05 mL of 0.1M HCl. The absorbance was read at 540 nm every 30 seconds after HCl addition till the end of hemolysis. The difference of absorbance at the beginning and the end of hemolysis was determined as 100% (total hemolysis). The disintegration of erythrocytes (%) at every 30seconds was expressed as a curve.

The smears were fixed by dipping the slides in absolute methanol, allowing them to air-dry, and then staining with May-Grunwald solution for 5 min, followed by 6% Giemsa stain for 15 min. Slides were selected based on staining quality. In each group, 10,000 cells (minimum of 1,000 per slide) were examined under a 40× objective with a 10× eyepiece (Microscope Leica DM300) to identify morphologically-altered erythrocytes in separate studies.

The mean ± S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the intergroup difference. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the total antioxidant capacity level (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Mann-Whitney *U* test (Zar, 1999). All statistical calculations were performed on separate data from each individual with Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

In the control group (untreated erythrocytes' suspension), erythrocytes incubated with 0,1M HCl remained stable and demonstrated slight hemolysis. The maximum level of hemolysis was ( $14.6 \pm 0.85$  %); the total duration of hemolysis was 12.0 min. When *R. myrtifolium* extract was added to the erythrocyte suspension, the maximum level of hemolysis has occurred after 6.0 min of incubation with 0,1M HCl ( $18.1 \pm 1.21$  %). The total duration of hemolysis after *R. myrtifolium* extract incubation was 10.5 min. The results showed that HCl-induced hemolysis was increased by the treatment of *R. myrtifolium* extract.

The normal red blood cell shape is a biconcave discocyte. Intercalation of a drug in the outer half of the membrane lipid bilayer leads to echinocytosis, intercalation in the inner half to stomatocytosis (Reinhart et al., 2014). The observation of the photomicrographs revealed that the untreated erythrocytes are a normal biconcave shape. No changes in the size and shape of cells, as well as protuberances on their surfaces and/or cells, after exposure to *R. myrtifolium* extract was observed. Importantly, no ruffled edges (echinocyte or crenated cells) were also demonstrated. The erythrocytes in the presence of *R. myrtifolium* extract maintained the normal biconcave shape, except a very few cells, underwent a slight change in conformation.

Therefore, extract obtained from the leaves of *R. myrtifolium* in dose 5 mg/mL showed mild hemolytic activity, while the oxidative stress biomarkers were non-significantly changed. Our results further suggest that *Rhododendron myrtifolium* could be further investigated for the isolation and purification of the active constituents.

*This study was supported by The Polish National Agency for Academic Exchange, and we thank them for their assistance in our study.*

### **Sidor E., Dżugan M.**

#### **THE CHANGES OF GLYCOSIDASES ACTIVITIES IN VARIETAL HONEYS DURING LIQUEFYING**

*Department of Food Chemistry and Toxicology Institute of Food Technology and Nutrition University of Rzeszow  
1a, Cwiklinskiej St., Rzeszow, 35-601, Poland  
ewelina.sidor@poczta.onet.pl*

Honey is a product known to human from a long time. Biological and chemical processes occurring in honey, as well as its application currently being intensively studied. In addition, the quality parameters for individual varieties for the bee product are described. Crystallization is a natural phenomenon characteristic of a particular honey variety (Kędzia, 2017). In order to facilitate the dispensing of honey, decrystallization is carried out. An improperly carried out process of liquefying honey may change its quality parameters (Habryka, 2015).

The aim of the study was to assess changes in diastase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\alpha$ -glucosidase and  $\beta$ -galactosidase activities during decrystallization of varietal honeys.

Three samples of honey obtained from beekeepers from Podkarpackie voivodeship, including linden, multiflora and acacia, were used in the study. Two methods were used: microwave (power 800 W, for 2 min), and ultrasonic (frequency 40 kHz for 5 and 20 min) (P.4205598 Dżugan M. et al.). The control sample was not subjected to liquefaction treatment. The Phadebas Diastase Test (© Magle AB Lund, Sweden 2010) was used to determine diastase activity, and the remaining glycosidases were determined by spectrophotometry using appropriate synthetic p-nitrophenol substrates.

The activity of the tested enzymes were variety- dependent. Lime honey showed the highest and acacia the lowest value of the diastase number (DN). The decrystallization process caused a decrease (from 34 to 42 %) of the value of diastase number (DN). The biggest changes compared to the control sample (25 DN) were recorded in multiflora honey fixed with microwaves (8.3 DN) and ultrasounds for 5 min (16.5 DN). The remaining analyzed honeys showed

a smaller but a significant ( $P < 0.05$ ) number of diastase due to the use of different liquefaction methods. Linden honey had the highest  $\beta$ -galactosidase activity, compared to other honey varieties. The process of decrystallization by ultrasound for 20 min had the greatest impact on the decrease in the activity of the analyzed enzyme, by 47 %. Lower changes were found for  $\alpha$ -glucosidase (by 33 %) and mannosidase (by 20 %) activities. The most intense changes were observed for tested honeys exposed to microwaves, above 50% of inhibition for all tested glycosidases. Liquefaction of multifloral honey using the microwave method significantly reduced the activity of  $\alpha$ -glucosidase (decrease by 56 %) and  $\beta$ -galactosidase (by 58 %). Whereas strong inhibition of  $\alpha$ -mannosidase activity (by 76 %) was observed. For acacia honey the smallest changes in analyzed glycosidases during liquefaction were observed, with the largest losses (about 15–42 %) recorded in liquefied honey using the microwave method.

Innovative methods of honey decrystallization using ultrasounds allow for a significant acceleration of the liquefaction process, and the statistically significant changes observed in the enzymatic activity of honey do not affect the quality of honey in relation to applicable legal requirements.

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

**EFFECT OF HIGH CONCENTRATIONS OF AMINO ACIDS ON APOPTOSIS  
AND NECROSIS IN RAT PANCREATIC ACINAR CELLS**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiyi St., Lviv, 79005, Ukraine  
mykolashostak@gmail.com*

Acinar pancreatic cells, among normal cell types, carry out the fastest protein synthesis necessary for the secretion of enzymes. To do this, the pancreas accumulates more amino acids (AA) than other tissues (Zhang et al., 2019). High doses of basic AA (L-arginine, L-lysine, L-ornithine, and L-histidine) are widely used in animal models of acute pancreatitis, although the mechanisms of pancreatic injury caused by AA are not well understood. Conversely, the positive effect of alanyl-glutamine dipeptide in early stage acute pancreatitis treatment was shown. The study aimed to investigate the viability of rat pancreatic acinar cells with alanine, arginine, lysine, histidine, asparagine, aspartate, glutamate and glutamine at the concentration of 20 mM.

The experiments were performed on male 250–300 g. Wistar rats. A suspension of isolated pancreatic acinus was obtained using collagenase by a modified Williams method and co-authors. The basic extracellular medium contained, mM: NaCl – 140.0, KCl – 4.7, CaCl<sub>2</sub> – 1.3, MgCl<sub>2</sub> – 1.0, HEPES – 10.0, glucose – 10.0; BSA – 2.5 mg/ml, soybean trypsin inhibitor – 0.1 mg/ml; pH 7.4. In an additional experiment, Gibco™ DMEM medium (Thermo Fisher, USA) with glucose (10 mM) and without glutamine was used for comparison. In experiments, alanine, arginine, lysine, histidine, asparagine, aspartate, glutamine and glutamate at a concentration of 20 mM were added to the solutions. Cell staining was performed using fluorescence dyes Hoechst 33258 and ethidium bromide to detect necrosis and early or late apoptosis using an Olympus IX73 fluorescence microscope. Statistical calculations were performed by one-way analysis of variance with repetitions (ANOVA) and adjusted by the Holm–Bonferroni t-test.

After 2 hours of incubation, 18 % of necrotic cells were detected in the basic extracellular medium (in control). In the presence of alanine and glutamine, a statistically significant decrease in the number of dead cells was observed to 8 and 9 %, respectively. Asparagine, aspartate and histidine did not statistically significantly affect the viability of pancreatic acinar cells, although the number of necrotic cells varied significantly in each case. Incubation of pancreatic acini with arginine and lysine increased in the proportion of necrotic cells up to 25 and 30 %, respectively.

One of the causes of necrosis in acinar cells may be the lack of sufficient amino acids in the medium. To test this hypothesis, we used a DMEM medium with the same glucose concentration as in the previous experiment. It was found that after 2 h of incubation, the number of necrotic cells in DMEM was 11% and the number of cells in the early and late stages of apoptosis was less than 1 %. After 4 h of incubation in DMEM, 12 % were necrotic and less than 1 % of acinar cells by apoptosis. A statistically significant difference in the viability of acinar cells due to the influence of the amino acids under study was not detected, either at 2 h or 4 h of incubation.

Therefore, the toxic effects of lysine and arginine *in vitro* were due to a deficiency in the medium of normal concentrations of amino acids and/or vitamins. Long-term experiments are needed to study the mechanisms of the toxic effects of these amino acids *in vivo*.

**Tkachenko H., Kurhaluk N.**

**EXERCISE-INDUCED ALTERATIONS IN THE AMINOTRANSFERASES' ACTIVITY  
IN THE BLOOD OF HORSES INVOLVED IN RECREATIONAL HORSEBACK RIDING  
(POMERANIAN REGION, NORTHERN POLAND)**

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Poland has a long tradition of horsemanship stemming. Horses are still used extensively in agriculture and various sports including, in winter, skijoring. There are many riding clubs around the country as well as country estates that still have stables (Wójcik and Skrzypczak, 2014). Some geographic areas are more closely associated with the use of horses



than others, i.e. Pomeranian region in Poland. Pomerania is one of the most dynamically developing regions in Central and Eastern Europe. A range of actions taken for the last years makes the region become a more advanced and attractive place each day (*Investment Areas in Poland. Presentations of investment grounds*, 2013). In general, any horse can be a trail riding horse. Some breeds, however, are more common on the trails than others. These breeds usually have a gentle disposition, tend not to spook easily, are fairly sure-footed and are smooth enough that they are comfortable to ride for extended periods (Pagoulatos et al., 2008). For riding, often use horses of local breeds, which are bred directly in recreational areas. For example, Hucul horses which are widespread in the Carpathians – in Poland and Ukraine.

With continued growth in the number of horses used for therapeutic riding, it is imperative to consider horse stress levels to ensure both the health and welfare of animals used (Johnson et al., 2017). Blood consists of many components that play an essential role in supporting the increased metabolic rate during exercise by transporting oxygen, water, enzymes, electrolytes, nutrients, and hormones to working muscles. Physical effort influences many parameters in the horse blood and since training should lead to more efficient energy metabolism, it seems advisable to determine biochemical parameters during the training session and in horses (Piccione et al., 2007, 2008, 2010; Kirschvink et al., 2008; Fazio et al., 2011; Andriichuk et al., 2014-2017; Tkachenko et al., 2016). Therefore, the goal of our study was to determine changes in alanine (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities in the blood of horses involved in recreational horseback riding from Pomeranian regions during a training session. Measurement of liver biomarkers (AST, ALT) followed by a variety of training programs, can help to better understand the acute and chronic effects of resistance training.

Thirteen healthy adult horses from the central Pomeranian region in Poland (village Strzelinko, N54°30'48.0'' E16°57'44.9''), aged 9.5±2.4 years, including 5 Hucul ponies, 2 Thoroughbred horses, 2 Anglo-Arabian horses, and 4 horses of unknown breed, were used in this study. All horses participated in recreational horseback riding. Horses were housed in individual boxes, with feeding (hay and oat) provided twice a day, at 08.00 and 18.00 h, and water available *ad libitum*. All horses were thoroughly examined clinically and screened for hematological, biochemical and vital parameters, which were within reference ranges. The females were non-pregnant. Training started at 10:00 AM, lasted 1 hour and consisted from a ride of cross country by the walking (5 min), the trotting (15 min), the walking (10 min), the trotting (10 min), the walking (5 min), the galloping (5 min), and the walking (10 min).

Blood was drawn from jugular veins of the animals in the morning, 90 minutes after feeding, while the horses were in the stables (between 8:30 and 10 AM), and immediately after the exercise session (between 11:00 AM and 2:00 PM). Blood was stored in tubes with K<sub>3</sub>-EDTA and sodium citrate (3.8%) and held on ice until centrifugation at 3,000 rpm for 15 minutes. The plasma was removed and defibrinated. Serum was used for the determination of aminotransferases and lactate dehydrogenase activity. Alanine aminotransferase (ALT, E.C. 2.6.1.2) and Aspartate aminotransferase (AST, E.C. 2.6.1.1) activities were analyzed spectrophotometrically by the standard enzymatic method (Reitman and Frankel, 1957). One unit/L of AST or ALT is defined as the liberation of 1 mmol of pyruvate per hour at 37°C incubation per L of plasma.

All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test ( $p > 0.05$ ). To find significant differences (significance level,  $p < 0.05$ ) between states before and after the exercise, the Wilcoxon signed-rank test was applied to the data (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft, Krakow, Poland).

In our research, non-significant alterations of AST and LDH activities in horses involved in recreational horseback riding were observed. Moreover, ALT activity was decreased by 20.6% ( $p = 0.000$ ) during a training session. The regular training lead to adaptive processes that provoke changes in hematological and biochemical indices. The extent of changes depends on several factors: type of exercise, the intensity of work (strength, duration, and frequency) and individual variation. Physiological increases of ALT and AST have been shown to occur without any tissue destruction (Hinchcliff and Geor, 2008).

Aspartate aminotransferase is a cytoplasmic and mitochondrial enzyme that catalyzes the deamination of aspartate to form oxaloacetate, which can enter the Krebs cycle (Andrews et al., 1995). Increases in plasma aminotransferases activity may be due to hepatocyte damage, muscle damage, or *in vitro* hemolysis (Andrews et al., 1995). ALT is a pyridoxal-dependent enzyme that catalyzes the reversible transamination of L-alanine and  $\alpha$ -ketoglutarate to form pyruvate and L-glutamate. The extent of changes in AST, ALT and LDH activities depends on the nature of the exercise (Hinchcliff and Geor, 2008). Bashiri and co-workers (2010) found that resistance training for two months leads to a non-significant increase in serum ALT and AST levels in non-athlete students. Therefore, non-significant changes in LDH and AST activity suggests a special form of adaptation, and if exercise stress is followed by proper recovery, it will prevent more damage to the liver and muscles (Bashiri et al., 2010).

A possible reason to explain our results is that horses have a higher capacity for blood lactate removal. Blood lactate removal is determined by several factors, such as whole-body muscle mass, local blood flow and consequently muscle capillary content, active and inactive muscles oxidative capacity, other tissues transport and gluconeogenesis capacity and arterial lactate availability as well (Brooks, 1991). It is pointed out that many conditions influence the rate and magnitude of the accumulation of lactate in blood and muscles. Included are diet, state of physical fitness, and the type and duration of the exercise. These are several corollaries between muscle and whole-body lactate metabolism:

temporal dependence on lactate uptake and release, the effects of beta-adrenergic stimulation on lactate formation and release, the effect of prior endurance training on lactate metabolism, the effect of lactate on glucose uptake and utilization, and the role of low oxygen tension (hypoxia) in loosening the control of glycolysis. The formation, exchange, and utilization of lactate represent a central means by which the coordination of intermediary metabolism in diverse tissues and different cells within tissues can be accomplished (Brooks, 1991).

The regular training lead to adaptive processes that provoke changes in biochemical indices. In our research, non-significant alterations of AST activity in horses involved in recreational horseback riding were observed. This may indicate a normal course of aerobic-anaerobic glycolysis in horses involved in recreational horseback riding during a training session. Moreover, ALT activity was decreased by 20.6% ( $p=0.000$ ) during a training session. Based on these results, it is concluded that the endurance exercises lead to specific metabolic changes accompanied by a redistribution of energy supply for improving resistance to exercises and the athletic performance of horses. Therefore, the present data can be useful to assess the status of athletes and the degree of their training adaptability providing an opportunity to modify the training schedule to achieve the desired performance.

*The authors are grateful to The Polish National Commission for UNESCO for supporting our study.*

**Tkachenko H., Kurhaluk N.**

**EXTRACELLULAR MAGNESIUM DEFICIENCY AND THE OXIDATIVE STRESS IN THE MUSCLE TISSUE OF JUVENILE SEA TROUT IN DRAINAGE BASINS OF ŚLUPIA RIVER (POMERANIAN REGION, POLAND)**

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewski Str. 22b, 76-200 Słupsk, Poland  
e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

The involvement of free radicals in tissue injury induced by magnesium (Mg) deficiency causes a reduction of the antioxidant status and the accumulation of oxidative products in heart, liver, kidney and skeletal muscle tissues, in erythrocytes and cultured endothelial and cortical cells (Freedman et al., 1992; Mak et al., 1994; Regan and Guo, 2001; Martin et al., 2003). Also, the prevention of injury induced by Mg deficiency could be achieved through antioxidant treatment (Mak et al., 1994). Finally, in Mg-deficient fish, a considerable amount of magnesium was absorbed via extra-oral routes, however, this way of the covering magnesium need becomes insufficient in fast-growing fish (Dabrowska et al., 1991). Although the fish tissue plays a major role in Mg homeostasis, as shown by the accumulation or release of very large amounts of Mg upon specific metabolic stimulation, to our knowledge, the group of Dabrowska and Dabrowski (1991) has reported on the susceptibility of tissue to Mg deficiency by showing that Mg deficiency decrease antioxidant defense in fish. Therefore, the aim of our study was an analysis of magnesium content and oxidative stress biomarkers (2-thiobarbituric acid reactive substances, aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins) in the muscle tissue of juvenile sea trout in drainage basins of Śłupia river (Głaźna, Skotawa, Kamienna, Kwacza).

The study materials were sampled from 215 smolts of sea trout from the four tributaries of the Śłupia river (Central Pomeranian region, northern Poland) – Głaźna, Skotawa, Kamienna, and Kwacza. Śłupia river is one of the main rivers of Central Pomerania, where trotting takes place. The length of the Śłupia river is 138.6 km and the area of its catchment area is 1310 km<sup>2</sup> [Data according to “*Hydrographical division of Poland*”, 1983].

Samples catches were carried out at four positions: 1) Position 1 – Głaźna river: tributary with a length of 15 km and a catchment area of 86 km<sup>2</sup>. The sources are located in the village of Wielogłowy. It flows through the village Krępa near Słupsk and Słupsk is situated at the western border of this village (Dębowski et al., 2000); 2) Position 2 – Kamienna river is a left bank of Śłupia. The river’s length is 9 km and its catchment area is 26 km<sup>2</sup>. The sources of this river are close to the village Powilczyn, and Śłupia is opposite the estuary of the Skotawa river (Dębowski et al., 2000); 3) Position 3 – Skotawa river. It is the right bank and at the same time the largest tributary of Śłupia. Its length is 45 km, the catchment area is 263 km<sup>2</sup>. Its origin is in a small lake near the village Sozyca, and to the Śłupia river, it banks on 75 km (Dębowski et al., 2000); 4) Position 4 – River Kwacza is a left-bank tributary of the Śłupia river with a length of 21 km, the catchment area of 85 km<sup>2</sup>. It flows through Kwakowo village. Sources of Kwacza river are located in Sycewice village and the estuary to Śłupia river at 83 km (Dębowski et al., 2000). A sampling of smolts was conducted in close cooperation with the Śłupia Valley Landscape Park and the District Board of the Polish Fishing Association in Słupsk. Fishing for juvenile trout was made by electroplating using a generator with a DC adapter.

Muscle tissue was sampled for chemical and biochemical assays from each fish. To biopsy analysis, the muscle tissue samples were taken at the height of the dorsal fin above the lateral line. To determine the Mg concentration in the samples of muscle tissue, they were mineralized in a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Micro- and macroelement determinations were performed by flame atomic absorption spectrometry (air flame - acetylene) using a Perkin Elmer AAnalyst 300 Atomic Absorption Spectrometer. For determining calcium and magnesium, and to eliminate phosphorus exposure, a lanthanum chloride was added to all samples to provide a 0.5% concentration of La<sup>3+</sup> in the test solutions. The results of Ca, Mg, Na were expressed in mg per 100 g wet weight. The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of TBARS with the Kamyschnikov method (2004) for determining the malondialdehyde (MDA) concentration. The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid reaction with 2,4-dinitrophenyl hydrazine (DNPH) as described by Levine and co-workers (1990) and as modified by Dubinina co-workers (1995). The results obtained were

statistically analyzed using Statistica 8.0 (StatSoft, Poland). Kruskal-Wallis statistic test ( $p < 0.05$ ) was used to determine the significance of the differences between the metals and oxidative stress biomarkers in groups of fish from different rivers (Zar, 1999).

The magnesium levels in the muscle tissue of smolts in 2010, 2012-2016 were increased, while it was decreased in 2011. Significant statistical differences in magnesium concentrations were obtained between 2009 and 2010, as well as between 2009 and 2011. There was an increase in Mg concentration in muscle tissue by 114% ( $p < 0.05$ ) in 2010 compared to 2009, by 17% ( $p < 0.05$ ) in 2011 compared to 2010. The results obtained are comparable with those of other authors. For example, the concentration of magnesium in trout muscle tissue was 21.9-26.4 mg per 100 g and 22.1-24.5 mg per 100 g in salmon (Damek-Poprawa and Sawicka-Kapusta, 2004). The level of 2-thiobarbituric acid reactive substances in muscle tissue of smolts during 2009-2016 was at a similar level. The highest levels of both aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in muscle tissue of smolts were obtained in 2009, while in 2010 a downward trend was recorded, and in 2011-2016 – re-growth. High levels of lipid peroxidation biomarker, ketonic and aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins in the muscle tissue of brown trout smolts may indicate a certain degree of pollution in fish habitat, especially in 2011.

In our study, oxidative stress biomarkers and Mg levels were correlated inversely. Finally, our results show that extracellular Mg deficiency can induce lipid and protein oxidation in muscle tissue of trout, most probably by an oxidative stress-related mechanism. This hypothesis is strengthened by preliminary data showing that an N-acetylcysteine supplementation of Mg-free medium restored the GSH concentration (a 12-fold increase compared with unsupplemented Mg-free medium), and this was associated with reduced activation of caspase-3 (a 65% decrease compared with unsupplemented Mg-free medium), and a decreased lipid peroxidation rate (a 75% decrease compared with unsupplemented Mg-free medium) (Martin et al., 2003). Dabrowska and Dabrowski (1990) also have demonstrated that supplementation with dietary Mg at a minimum level of 0.06% seems to be essential to prevent the hypercalcinosis of the kidney and hepatopancreas in a fish, the common carp. Mg deficiency appears to not affect the Mg level in kidneys and hepatic tissue, whereas the Fe level in those tissues was significantly diminished by increasing dietary Mg supplementation up to 3.2 g per kg. Both hypercalcinosis and accumulation of Fe in soft tissues were more pronounced in fish offered diets high in protein (44%) compared to fish on the low dietary protein (25%). The ascorbic acid in the hepatopancreas and kidney was greatly depleted in fish fed the high-protein diets, and this depletion did not correlate with the dietary Mg level nor with a high level of tissue Ca. However, the increased Ca concentration in the kidney coincided with the greatest depletion of ascorbate in fish fed a high-protein diet. The concentration of ascorbate in the brain was much less affected by a low level of vitamin C in the diets than in other tissues. The depletion of ascorbate in soft tissues did not correspond to fish growth but might be rather related to the metabolic rate imposed by the dietary nutrients. It is suggested that the Mg and ascorbic acid requirements in the carp are considerably elevated by the increased dietary protein level (Dabrowska and Dabrowski 1990). Further studies are currently underway to clarify the relationship between Mg deficiency and the decrease in antioxidant defense that subsequently induces increases in lipid peroxidation. In conclusion, our study shows that extracellular Mg deficiency affects oxidative stress by inducing protein oxidation.

*The authors are grateful to The Polish National Commission for UNESCO for supporting our study.*

**Tkachenko H., Kurhaluk N., Hetmański T.**

THE UREA-INDUCED HEMOLYSIS OF FREE-LIVING MUTE SWAN  
(*CYGNUS OLOR*) FROM GDYNIA AND Sopot COASTS (NORTHERN POLAND)

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk, Poland*

*Arciszewski Str. 22b, 76-200 Slupsk, Poland*

*e-mail: tkachenko@apsl.edu.pl*

Multiple environmental contaminants have been a concern for human and wildlife health for decades in the Baltic Sea region (Hutniczak and Kronbak, 2011). Persistent organic and metal pollution and other anthropogenic activities continue to deposit certain elemental contaminants, such as dioxins, into the Baltic Sea region (Karl et al., 2010; Hutniczak and Kronbak, 2011). Assessing the cytotoxicity caused by the different contaminants exposure on the birds is a research field able to help to understand the toxic effects of various contaminants. Many studies focused on birds' exposure to contaminants already showed the usefulness of techniques able to identify toxic effects, as well as to bio-monitor the environment (de Faria et al., 2018). Among the cytotoxic assays, the *in vitro* hemolytic activity test and the assessment of oxidative stress biomarkers have been broadly used to assess the oxidative damages induced by chemical and physical agents due to their simplicity and sensitivity to xenobiotics able to induce oxidative stress (el-Mekawi et al., 1993).

Mute swan (*Cygnus olor*) can be considered as a representative species of birds associated with the aquatic environment. Counting the population of these birds has shown that this species responds very clearly to changes in the environment (Molnar, 1983; Pennycott, 1998; Perrins et al., 2003; Beyer and Day, 2004; Cousquer, 2006; Grúz et al., 2015). Assuming that the condition of the mute swan population well reflects the state of the environment, this species was used in our research as a bioindicative species. Thus, our study aimed to investigate the erythrocytes' hemolytic activity of mute swan from the Baltic coastal region in two points, i.e. Sopot and Gdynia. These comparisons showed

whether mute swans from the Baltic coastal regions had elevated levels of hemolysis as well as gender variation in erythrocytes' damage.

Coastal regions at Sopot (54°26'31"N 18°33'35"E) and Gdynia (54°31'09"N 18°32'22"E), one of the most important sites for non-breeding concentrations of waterfowl in the Baltic Sea, have big wintering populations of a free-living mute swan (Durinck et al., 1994). Forty adult mute swans were captured from Sopot and Gdynia in February 2013. Collected birds were measured and weighed, and the blood was sampled. Sex was determined by cloacal examination, while the age based on plumage coloration (Brown and Brown, 2002). The birds were divided into 4 groups (after the 2<sup>nd</sup>/3<sup>rd</sup> year of life): males from Sopot (n = 10), females birds from Sopot (n = 10), males from Gdynia (n = 10), and females from Gdynia (n = 10). Blood samples were collected from the medial metatarsal vein in a 3.8% sodium citrate solution for the erythrocyte sedimentation rate. All swans were marked with the numbered ornithological ring and released on the same body of water where they were captured. Blood was stored in tubes and held on the ice until centrifugation at 3,000 rpm for 15 minutes. The plasma was removed. The erythrocytes' suspension (one volume) was washed with five volumes of saline solution three times and centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes.

The osmotic resistance of erythrocytes was measured spectrophotometrically at the wavelength of 540 nm as described by Kamyschnikov (2004). The assay is based on the determination of differences between the osmotic resistance of erythrocytes to a mixture containing a different concentration of sodium chloride and urea. The absorbance of the mixture containing the erythrocytes and 0.3 M urea solution was determined as 100% hemolysis (standard). The level of hemolysis in every test tube (%) was calculated concerning the absorbance of the standard. Hemolysis of erythrocytes (%) in every test tube with different urea concentration was expressed as a curve (Kamyschnikov, 2004). To find significant differences (significance level,  $p < 0.05$ ) between various groups, the Kruskal–Wallis test by ranks was applied to the data (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using Statistica 8.0 software (StatSoft, Poland).

The assessment of osmotic resistance of erythrocytes (the percent of hemolyzed erythrocytes in solutions with different NaCl and urea concentration) of the males and females from Gdynia and Sopot demonstrated that the more significant differences in the percentage of hemolyzed erythrocytes both among males and females from Gdynia and Sopot were observed. In particular, statistically significant ( $p < 0.05$ ) higher level of hemolyzed erythrocytes among males from Gdynia compared to those from Sopot (in 4.1-, 3.98-, 3.66-, 2.86-, 1.61-, and 1.42-fold after incubation with 0.12, 0.135, 0.15, 0.165, 0.18, and 0.195 mol/L urea solution, respectively) was noted. Comparing the percentage of hemolyzed erythrocytes both among males and females from Sopot, the higher values of hemolyzed erythrocytes were noted among females in 1.97, 1.90, and 2.05-fold after incubation with 0.135, 0.15, and 0.165 mol/L urea solution, respectively. Moreover, the percentage of hemolyzed erythrocytes among females from Gdynia after treatment with the 0.15 mol/L urea solution was higher by 2.04-fold ( $p < 0.05$ ) compared to females from Sopot.

The erythrocytes membrane resistance has been used by us as a tool in the assessment of toxicity, for example, habitat environments of the mute swan using their erythrocytes. Erythrocytes of males and females from Gdynia were more fragile than those subjects from Sopot. Osmotic and acidic-induced fragility is altered among females from Gdynia and induced a higher level of hemolyzed erythrocytes. Increased osmotic fragility among females from Gdynia can be correlated to the increased lipid peroxidation of erythrocytes. Lipid peroxidation has been implicated in the alterations of membrane structure and functions. Increased lipid peroxidation has been reported to cause an increase in osmotic fragility and a decrease in cell fluidity (Hebbel, 1986).

Mute swans are commonly exposed to a mixture of environmental contaminants. However, there are few studies on the toxicity of metal mixtures and they are often based on the frequency of occurrence and the level of contamination in a particular ecosystem (Romero et al., 2009). For example, environmental pollution caused by heavy metals is responsible for numerous pathologies in wild species. Lead has been the cause of serious cases of mortality in different types of birds (Eisler, 1988; Finkelstein et al., 2003).

In summary, the highest percentage of hemolyzed erythrocytes after incubation with solutions of various urea concentrations was observed both among males and females from Gdynia. The lowest percentage of hemolyzed erythrocytes was exhibited by the erythrocyte suspension of males from Sopot. Comparing the percentage of hemolyzed erythrocytes both among males and females from Sopot, the higher values of hemolyzed erythrocytes were noted among females.

Our study showed more individual variation, probably related to the impact of the environmental habitat and consumption of ingested prey items by mute swans. The results of this study therefore ultimately suggest that one of the costs of combating an oxidative challenge and erythrocyte hemolysis (and of the associated high percentage of hemolyzed erythrocytes) is the impairment of antioxidant defenses. These ideas should stimulate more experimental work designed to better understand the complex inter-relationships between oxidative stress, antioxidant levels, hemolysis, micro- and macro-elements, and the expression of antioxidant-based traits.

## ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН / PLANTS PHYSIOLOGY

**Батуєва Є.Д.**

## ВПЛИВ ЧЕРВОНОГО СВІТЛА НА РОСТОВІ РЕАКЦІЇ ТА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ У РОСЛИН, КОНТРАСТНИХ ЗА ФОТОПЕРІОДИЧНОЮ РЕАКЦІЄЮ

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна  
кафедра фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів  
Майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
batuyeva96@gmail.com*

**Batuyeva Y.D.** THE INFLUENCE OF RED LIGHT ON GROWTH RESPONSES AND PROLIFERATIVE ACTIVITY IN PLANTS CONTRASTING BY PHOTOPERIODIC REACTION. The influence of red light irradiation on the change dynamics of mitotic index of the root meristematic cells and root growth reactions of plants contrasted by photoperiodic reaction was studied. It was established that irradiation with red light of the Maecenate variety pisum plants leads to an increase of a length of the main root and a decrease of the proliferative activity of the root meristematic cells. Korsak variety soybean plants had an increase both the root length and mitotic index under red light irradiation. It was concluded that the growth responses of the studied plants are under phytochrome control and there is a difference in growth responses for plants of different photoperiodic groups.

Відомо, що світло є основним чинником, який регулює процеси росту й розвитку рослин. Сприйняття світлових сигналів відбувається завдяки рецепторам світла, не пов'язаним із фотосинтетичним апаратом; серед цих рецепторів найважливішу роль відіграють фітохроми, що сприймають і передають світловий сигнал червоної ділянки спектра (600–750 нм) (Quail, 2010). Червоне світло контролює ріст і морфогенез рослин (Kamí et al., 2010), активність ферментів, інтенсивність фотосинтезу (Sharkey et al., 2004), накопичення і розподіл асимілятів (Цибулько, 1998) та інші процеси. Світловий сигнал сприймає головним чином надземна частина рослин, їхня апікальна меристема, де синтезуються фізіологічно активні речовини, які активно впливають на ріст і розвиток кореневої системи (Казарян, 1984). Особливості проліферації клітин кореня тісно пов'язані з реакцією рослин на зміни навколишнього середовища, в тому числі й на опромінювання селективним світлом (Іванов, 1987, Конев, 1987), але характер цих змін може залежати від фотоперіодичної реакції рослин. Метою нашої роботи було визначити вплив опромінювання монохроматичним червоним світлом (ЧС) із довжиною хвилі 660 нм на ростову реакцію та динаміку мітотичної активності за зміною мітотичного індексу (МІ) клітин кореневої меристеми у рослин, контрастних за фотоперіодичною реакцією. Як рослинний матеріал використовували проростки довгоденної рослини – гороху посівного (*Pisum sativum* L.) сорту Меценат і короткоденної рослини – сої культурної (*Glycine max* L.) сорту Корсак. Стерилізоване насіння пророщували протягом 4 діб, після чого етіюльовані проростки опромінювали ЧС (660 нм) по 30 хв протягом 5 діб. На 6-ту, 7-му та 8-му доби експерименту визначали ростову реакцію за довжиною головного кореня та проліферативну активність за аналізом мітотичного індексу клітин меристеми кореня. За результатами наших експериментів показано, що у контрольних проростків довгоденного гороху сорту Меценат протягом дослідження відбувається поступове збільшення довжини головного кореня. За впливу ЧС (660 нм) ріст підземної частини проростків пригнічувався, але на 8-му добу дослідження трохи збільшувався. Водночас ЧС призводило до зменшення значення МІ клітин меристеми кореня дослідних проростків гороху. У короткоденної сої під впливом ЧС спостерігали збільшення довжини головного кореня протягом усього експерименту. У контрольних проростків сої спостерігали онтогенетичні зміни проліферативної активності протягом дослідження. У дослідних проростків сої за дії ЧС показано збільшення значення МІ - стимулювання проліферативної активності кореневих меристем.

Отже, у ході проведених дослідів показано, що активування фітохромної системи шляхом опромінення етіюльованих проростків ЧС (660 нм) призводить до стимулювання росту головного кореня у рослин із різною фотоперіодичною реакцією, і до протилежних ефектів у регулюванні мітотичної активності кореневих меристем у цих рослин.

**Бухонська Я., Дерев'янчук М., Кравець В.**

## ВПЛИВ БРАСИНЕСТЕРОЇДІВ НА АКТИВНІСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗ У РОСЛИН АРАБІДОПСИСУ З НОКАУТОВАНИМИ ГЕНАМИ НЕСПЕЦИФІЧНИХ ФОСФОЛІПАЗ С ТА ЦИТОХРОМНЕ Й АЛЬТЕРНАТИВНЕ КЛІТИННЕ ДИХАННЯ У РОСЛИН ДИКОГО ТИПУ

*Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії імені В. П. Кухаря НАН України  
вул. Мурманська, 1, м. Київ, 02094, Україна  
yasya.yaroslavka@gmail.com*

**Bukhonska Y., Derevyanchuk M., Kravets V.** BRASSINOSTEROID EFFECTS ON NADPH OXIDASE ACTIVITY IN THE ARABIDOPSIS WITH A NON-SPECIFIC PHOSPHOLIPASE C KNOCKOUTS, AND CYTOCHROME AND ALTERNATIVE RESPIRATION IN THE WILD TYPE PLANTS. NADPH-oxidase is a membrane-bound enzyme, which has roles in the plant immune responses and signalling. Brassinosteroids can modulate NADPH-oxidase activity, and therefore improve stress tolerance. PC-PLC produces second messengers that are crucial for a

different cellular processes signalling. That is why PC-PLC knockouts lead to a lower ability to recognize stress factors and respond to them. Brassinosteroids also alter a transcription of the respiratory pathways genes and therefore increase a capacities of the cyanide-sensitive and cyanide-resistant respiratory pathways.

Утворення активних форм кисню (АФК) є універсальною реакцією рослинного організму на вплив стресових чинників різної природи. Одним із ключових ферментів, що залучені у процес формування АФК і рослинного імунітету, є NADPH-оксидаза. Регуляція активності NADPH-оксидази тісно пов'язана із ліпідною сигнальною трансдукцією, зокрема, з фосфатидною кислотою, яка з'єднується зі субодиницями комплексу NADPH-оксидази. Формування фосфатидної кислоти забезпечує клас ензимів фосфатидилхолін-гідролізуючих фосфоліпаз С (ФХ-ФЛС). Експресія ізогенів NPCs, які кодують ФХ-ФЛС, активується під впливом еліситорів, фітогормонів, йонів важких металів, засолення, теплового стресу, дефіциту фосфору, тому з'ясування молекулярних механізмів її регуляції залишається актуальним питанням фітоімунології.

Метою дослідження було визначити роль ФХ-ФЛС у регуляції активності NADPH-оксидази у відповідь на гормональний (брасиностероїди - 24-епібрасинолід (ЕБЛ) та 24-епікастастерон (ЕКС)) і стресовий (флагелін і розпізнавання патоген-асоційованих молекулярних патернів бактерій) вплив. Утворення АФК було визначено методом гістохімії з використанням нітросинього тетразолію хлориду (НСТ).

Результати експерименту показали, що обробка листків *Arabidopsis thaliana* 24-епібрасинолідом (ЕБЛ) індукувала активність NADPH-оксидази як у рослин дикого типу, так і у рослин із нокаутованими ізогенами ФХ-ФЛС. Аналогічно, обробка флагеліном (flg22) – сигнальним пептидом, що є мономером бактеріального джгутіка, індукувала активність NADPH-оксидази у *A. thaliana*. Цей ефект значно посилювався за вирощування рослин на твердому поживному середовищі з вмістом  $10^{-8}$  М ЕБЛ. У рослин, мутантних за генами, що кодують ФХ-ФЛС, ефект ЕБЛ був знижений.

Брасиностероїди (БС) підтримують стабільність дихального мітохондріального електрон-транспортного ланцюга (мЕТЛ) за впливу біотичних і абіотичних стресорів завдяки активації генів компонентів ЕТЛ. За результатами аналізу активності цитохромного шляху дихання виявлено стимулювальний вплив ЕБЛ і ЕКС, при цьому за високих ( $10^{-6}$  М) концентрацій БС спостерігали пригнічення ціанід-чутливого шляху в коренях рослин. Найінтенсивніший стимулювальний вплив на активність цитохромного й альтернативного шляхів транспорту електронів виявили ЕКС і ЕБЛ у концентрації  $10^{-9}$  М.

Отримані результати підтверджують, що ФХ-ФЛС беруть участь у регуляції активності NADPH-оксидази й опосередковують вплив ЕБЛ під час розпізнавання флагеліну та джгутікової бактерії у рослин *A. thaliana*. Також встановлено, що 24-епібрасинолід і 24-епікастастерон регулюють активність цитохромного й альтернативного шляхів дихання.

Робота виконана за підтримки проєкту Національної академії наук України № 2.1.10.32-20.

**Данко Ю., Гриник І., Кобылецька М.**

САЛІЦИЛОВА КИСЛОТА ЯК ЧИННИК ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ДО ЗАСОЛЕННЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
yura\_danko@ukr.net

**Danko Y., Grynyk I., Kobyletska M.** SALICYLIC ACID AS A FACTOR OF INCREASE OF PLANT'S RESISTANCE TO SALINIZATION. The results of the salicylic acid exogenous application effects on the scale of stress resistance of corn plants are presented. The studied stress factor was salinity. Experiments have shown that salicylic acid has positively influenced stress resistance. This salicylic acid effect was confirmed by the plant growth rates, the dry mass accumulation, the contents of anthocyanins, proline, photosynthetic pigments and the level of the malondialdehyde as the lipid peroxidation marker.

Дослідження молекулярних механізмів стійкості рослин до стресових впливів навколишнього середовища є однією з найважливіших проблем у сучасному рослинництві. Знання природних захисних реакцій рослин може допомогти цілеспрямовано й ефективно керувати ними з метою підвищення продуктивності сільськогосподарських культур.

Метою нашої роботи було з'ясувати можливості підвищення стресостійкості рослин, зокрема, до засолення, за умов екзогенної обробки саліциловою кислотою. Для дослідів ми обрали рослину кукурудзи (*Zea mays* L.). Кукурудза – головна енергетична та фуражна культура у світі. Із загального світового виробництва зерна кукурудзи понад 60 % використовують на корм тваринам, понад 25 % – як харчовий продукт, решту 15 % – для промислової переробки і виробництва олії, цукру, крохмалю, спирту, глюкози (Мойсієнко 2015). Стресовим фактором обрали засолення ґрунту. Проблема засоленості ґрунту є дуже актуальною на даний момент, адже, зважаючи на щорічне зростання кількості населення, вирішення її допомогло би збільшити площі посівів. Тією чи іншою мірою засолено майже 25 % усіх ґрунтів нашої планети. Найшкідливішими для рослин є легкорозчинні солі (NaCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>). Нагромадження солі може спричинити часткову або повну втрату здатності ґрунту забезпечити рослини необхідною кількістю води (Rubio, 1996).

Моделювали різні ступені засоленості ґрунтів, що, безперечно, є стресовим чинником для рослин, і вивчали здатність саліцилової кислоти підвищувати стресостійкість рослин. Для проведення досліджень попередньо

замочували насіння кукурудзи в розчині саліцилової кислоти (0,05 мМ) упродовж 2-х годин, контрольне насіння замочували в дистильованій воді. Насіння пророщували в термостаті, а на 5-ту добу пересаджували на водні середовища: дистильована вода (контроль), NaCl (0,1 М), NaCl (0,22 М). Для визначення впливу саліцилату і NaCl на рослини визначали морфометричні показники, масу сухої речовини, активність процесів перекисного окислення ліпідів за утворенням малонового діальдегіду (МДА), вмістом антоціанів і проліну. Усі дослідження проводили на кафедрі фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка.

Результати проведених досліджень показали, що засолення спричинювало зменшення морфометричних параметрів, вмісту сухої речовини та зростання концентрації ТБК-активних продуктів у коренях і пагонах рослин кукурудзи. Попередня обробка насіння кукурудзи саліциловою кислотою послаблювала ефект інгібування росту коренів і пагонів рослин та збільшувала масу сухої речовини в органах рослин за умов засолення. Саліцилова кислота позитивно впливала на нагромадження антоціанів у пагонах рослин, вміст фотосинтетичних пігментів, а також спричинювала збільшення кількості проліну за дії засолення субстрату. Обробка насіння саліциловою кислотою зумовлювала зниження рівня ТБК-активних продуктів у тканинах досліджуваних рослин за дії засолення, що свідчить про зменшення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів за цих умов.

**Делєскє О., Кобылецька М.**

#### РОЛЬ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ У ФОРМУВАННІ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ДО ЗАСОЛЕННЯ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*ekseled@gmail.com*

**Dieliesskie O., Kobyletska M.** THE ROLE OF SALICYLIC ACID IN THE FORMATION OF SALT RESISTANCE. Salinity – an abiotic stress factor that leads to the decline of the growth and yields of the crop. One of the promising ways to increase salt resistance is the use of biologically active substances such as salicylic acid. Analysis of the literature data confirms the importance of salicylic acid in the formation of a response to salt stress in plants.

Близько  $322,9 \times 10^6$  га ґрунтів на планеті характеризуються підвищеним вмістом солей, і цей показник зростає з кожним роком (Parida, 2005).

Засолення – абіотичний фактор, який призводить до сповільнення росту, а отже, до зниження врожайності сільськогосподарських культур. Шкідлива дія засолення має комплексний характер і зумовлена як порушенням осмотичного балансу клітини, що негативно позначається на водному режимі рослин, так і прямим токсичним впливом іонів на фізіологічні та біохімічні процеси у клітині. Тому актуальною є проблема підвищення біологічної стійкості рослин до засолення. Одним із перспективних шляхів підвищення солестійкості рослин є використання саліцилової кислоти.

Саліцилова кислота (СК) впливає на різні біологічні процеси в рослинному організмі, пригнічуючи одні і стимулюючи інші. СК – проста фенольна сполука, яка виконує сигнальні функції, зокрема, бере участь у формуванні імунної відповіді рослин на дію біотичних і абіотичних стресорів. Вважають, що СК впливає на синтез і нагромадження АФО, які можуть активувати чи пригнічувати експресію окремих генів. Для визначення ролі СК у процесах адаптації рослин до абіотичних факторів було проведено низку досліджень різними авторами. Результати цих досліджень свідчать про те, що екзогенне застосування саліцилової кислоти веде до зростання солестійкості рослин картоплі (*Solanum tuberosum* L.), кукурудзи (*Zea mays* L.) та пшениці (*Triticum aestivum* L.), а також індукування посухостійкості рослин ячменю (*Hordeum vulgare* L.) та пшениці (*Triticum aestivum* L.) (Маленька, 2014). Крім того, попередня обробка рослин СК забезпечує зростання стійкості рослин до збудників грибкових і бактерійних хвороб. Ймовірно, такі позитивні ефекти пов'язані з тим, що СК відіграє важливу роль не лише в неспецифічному індуванні імунітету рослин до дії фітопатогенів, а й у формуванні аклімаційних реакцій до несприятливих чинників навколишнього середовища. Серед неспецифічних реакцій можна виокремити гальмування синтезу етилену, деполяризацію мембран, стимулювання фотосинтетичної активності, збільшення вмісту хлорофілу (Колупаєв, Ястреб, 2013).

Отримані результати підтверджують важливість СК у формуванні адаптивної відповіді рослин на вплив засолення.

**Карпинець Л.<sup>1</sup>, Роман І.<sup>1</sup>, Бешлей С.<sup>2</sup>, Соханьчак Р.<sup>2</sup>, Баранов В.<sup>1</sup>**

#### СТРУКТУРА БРІОФІТНИХ УГРУПОВАНЬ НА РЕКУЛЬТИВОВАНИХ ТА САМОЗАРΟΣЛИХ ВІДВАЛАХ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ

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

*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*<sup>2</sup>Інститут екології Карпат НАН України, вул. Стефаника, 11, м. Львів, 79005, Україна*

*lyudmyla.vo@gmail.com*

**Karpinets L., Roman I., Beshley S., Sokhanchak R., Baranov V.** STRUCTURE OF BRYOPHYTE COMMUNITIES ON THE RECLAMATION AND NATURALLY OVERGROWN COAL MINES ROCK DUMPS. Stable bryophyte communities on rock dumps of the Chervonograd mining area were investigated; their rank as epigeic bryo-

synusiae was specified. Floristic composition, projective coverage and life forms of bryophytes, features of ecological and coenotic differentiation of the bryoflora were defined. It was established that in the biomorphic structure of mosses, a species with the turfs and mats growth forms predominate, while among ecomorphs, dominating are heliophytes, mesophytes and xeromesophytes as well as epigeic ones.

Заростання шахтних відвалів відбувається як первинна сукцесія рослинного покриву з послідовними стадіями заселення толерантних видів мохоподібних і формуванням угруповань, які відрізняються як за видовим складом, так і за структурно-функціональною організацією.

Метадослідження-вивчити структуру бріофітних угруповань на відвалах вугільних шахт Червоноградського гірничо-промислового району, різних за стадіями рекультивациі та природного самозаростання.

Стійкі мохові угруповання розглядали у ранзі бріосинузій (Гапон, 2010; Гапон, 2013), назви їх констатували за доміантною класифікацією та життєвими формами діагностичних видів мохоподібних (Бойко, 1978; Улична, 1980; Гапон, 2011; Ходосовцев, Бойко, Надеіна, Ходосовцева, 2015).

Частоту трапляння мохів, проективне покриття кожного виду, біоморфологічну структуру, екологічні групи бріофітів встановлювали за класичними методиками (Улична, Гапон, Кулик, 1989; Рыковский, Масловский, 2004, 2009; Бойко, 2010; Лобачевська, 2012; Magdefrau, 1982; Richards, 1984; Glime, 2006).

Дослідження показали, що у ксероморфних умовах некультивованих відвалів у бріосинузіях переважають види із життєвою формою низької щільної дернини (*Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid, *Bryum caespitium* Hedw., *Bryum argenteum* Hedw.). Така біоморфна структура сприяє виживанню мохів в умовах дефіциту вологи та надмірної сонячної радіації. Високі дернини у бріосинузіях формують *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L. Smith. та *Sphagnum girgensohnii* Russow., які приурочені до перезволожених умов мікропонижень рельєфу на вершині рекультивованого терикону шахти «Надія» та *Polytrichum juniperinum* Hedw., що репрезентує мохові синузії на терасі й у підніжжі природно зарослого відвалу шахти «Візейська». На цьому ж відвалі виявлено переважання мохів із біоморфою пухкого чи щільного плетива.

На наймолодшому некультивованому відвалі Центральної збагачувальної фабрики «Червоноградська» найтипівіші бріосинузії здебільшого є моновидовими з переважанням ксеромезофітних, інцертофітних і олігомезотрофних видів (*Polytrichum piliferum* Hedw., *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.). Ущільнення деревного ярусу на відвалі шахти «Візейська» покращило мікроумови середовища, що стало передумовою для заселення представників бріофлори мезофітної (*Brachythecium glareosum* (Bruch ex Spruce) Schimp., *Cirriphyllum crassinervium* (Wils.) Loeske & Fleisch., *Amblystegium serpens* (Hedw.) Schimp.) та мезогірофітної групи (*Cephalozia bicuspidata* (L.) Dumort.).

Гетерогенність мікрокліматичних умов і фізико-хімічні властивості як техногенного субстрату, так і ґрунтосуміші, нанесеної під час гірничо-технічної стадії рекультивациі на відвалі шахти «Надія», сприяли поширенню мохоподібних досить різних екологічних груп.

Отже, особливості поширення мохоподібних і специфіка формування бріоугруповань значною мірою залежать від умов на відвалах, їхнього віку та стадії сукцесійних процесів.

**Макар О.<sup>1,2</sup>, Романюк Н.<sup>1</sup>, Пацула О.<sup>1</sup>, Терек О.<sup>1</sup>, Кузняр А.<sup>2</sup>, Козловський В.<sup>3</sup>**

**ВАРІАТИВНІСТЬ ЕНДОФІТНОГО МІКРОБІОМУ У СОРТАХ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ  
З РІЗНОЮ ЗДАТНІСТЮ ДО НАКОПИЧЕННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ**

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

<sup>2</sup>Львівський католицький університет імені Івана Павла II, Інститут Біотехнології  
вул. Константинов, 11, Львів, 20-708, Польща

<sup>3</sup>Інститут екології Карпат НАНУ, вул. Козельницька, 4, м. Львів, 79026, Україна  
orysia.makar@lnu.edu.ua

**Makar O., Romanyuk N., Patsula O., Terek O., Kuźniar A., Kozlovsky V. VARIABILITY OF ENDOPHYTIC MICROBIOME OF SPRING WHEAT VARIETIES WITH DIFFERENT MICRONUTRIENT ACQUISITION ABILITY.** The endophytic microbiome can selectively affect a number of factors that are necessary to obtain a high yields at relatively low production inputs. The wheat microbiome was studied by 16S rDNA MiSeq 2000 Illumina next generation sequencing followed by the computational analysis to reveal beneficial microbial communities for improved mineral nutrition, plant growth, yield and grain nutritional value.

Ендофітний мікробіом рослин утворений групами мікроорганізмів, у т.ч. бактерій, пов'язаних взаємозалежними трофічними зв'язками, які значною мірою впливають на обмін речовин, ріст, стійкість рослини.

Детальне дослідження складу та функції ендофітного мікробіому різних сортів пшениці перспективне з огляду на можливість виявлення виражного складу бактеріальних угруповань, які потенційно можна розглядати як засіб підвищення стійкості, врожайності та покращення харчової цінності зерна цієї культури.

Мета нашого дослідження - проаналізувати склад ендофітного мікробіому тканин проростків *in vitro* чотирьох сортів пшениці ярої української селекції (Дубравка, Струна Миронівська, Миронівський Оксамит,



Голіковська), які різнилися здатністю до поглинання мікроелементів, і порівняти ці дані з вмістом мікроелементів (Fe, Cu, Zn) у зародках названих сортів.

Екстрагування ДНК бактерій-ендофітів із рослин, вирощених в умовах *in vitro*, проводили за допомогою набору DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit (QIAGEN). Секвенування ДНК (Next Generation Sequencing) здійснювали за допомогою технології MiSeq 2000 Illumina (Genomed, Warsaw, Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Вміст мікроелементів у зародках пшениці визначали методом атомно-адсорбційної спектроскопії після кислотного озолення у  $\text{HNO}_3$  за допомогою системи мікрохвильової пробопідготовки Multiwave Go, Anton Paar (Австрія). На підставі аналізу нуклеотидних послідовностей 16S рДНК виявлено сортові відмінності видового складу ендоефітних угруповань коренів і пагонів проростків, вирощених в умовах стерильної культури *in vitro*. Тканини досліджуваних сортів пшениці ярої містили ендоефітні мікроорганізми, що належали до родів: *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Heliorestis* та *Clostridium*. Виявлено найбільшу родову різноманітність бактерій у сорту Миронівський Оксамит. Водночас, у зародках пшениці ярої із зерна, вирощеного в польових умовах низької біодоступності Zn і Cu, найвищі концентрації мікроелементів (Fe, Zn та Cu) встановлено у тканинах сорту Миронівський Оксамит селекції Миронівського Інституту пшениці ім. Ремесла НААНУ. Врожайність цього сорту за умов низької біодоступності елементів мінерального живлення була на рівні вище середніх значень.

Чи відбувається вертикальне успадкування мікробіому в цих сортів, чи впливають бактерії на здатність рослин поглинати мікроелементи в умовах низької біодоступності їх — це питання, на які необхідно знайти відповідь у подальших дослідженнях.

Частково проєкт фінансували National Center for Research and Development as part of the LIDER IX - 0024 / L-9/2017 та Visegrad Fund, Visegrad Scholarship #51810815.

Автори вдячні працівникам Миронівського Інституту пшениці ім. Ремесла НААН України та Харківського інституту рослинництва ім. Юр'єва за надане для досліджень сортове насіння пшениці.

#### **Потичко С., Величко О.**

#### **РІСТ РОСЛИН ОГІРКІВ І ВМІСТ У ЛИСТКАХ ПІГМЕНТІВ ФОТОСИНТЕЗУ ЗА УМОВ ПІДЖИВЛЕННЯ ФОСФОРОМ І МІКОРИЗАЦІЇ *TUBER MELANOSPORUM***

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
soniashumanska@gmail.com*

**Potychno S., Velychko O.** THE GROWTH OF CUCUMBER PLANTS AND THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN THE LEAVES UNDER THE CONDITIONS OF PHOSPHORUS FERTILIZATION AND MICORYZATION WITH A *TUBER MELANOSPORUM*. It was revealed the increase of the roots length and the content of chlorophylls *a* and *b* in the leaves of the cucumber Moravian Gherkin F1 plants as a consequence of a phosphorus fertilizer application (0,5 g/l) or a mycorrhization with the *Tuber melanosporum*.

Гострою проблемою сьогодення є забезпечення населення сільськогосподарською продукцією, зокрема, рослинною. Виробники постійно шукають шляхів підвищення врожайності основних сільськогосподарських культур.

Головний шлях підвищення врожайності сільськогосподарських рослин – внесення у ґрунт мінеральних елементів, але, по-перше, це дорого, по-друге, з мінеральними добривами у ґрунт потрапляють забруднюючі речовини. Альтернативним способом підвищення врожайності рослин може бути їхня мікоризація мікоризоутворювальними грибами. Це збільшує поглинальну поверхню коренів рослин і не спричинює забруднення ґрунтів, а навпаки – сприяє покращенню ґрунтових умов. Відомо, що мікориза може бути корисною для рослин у разі недоступності елементів живлення, зокрема, недоступності Фосфору. У літературі є відомості про позитивний вплив мікоризи із грибом *Tuber melanosporum* на врожайність рослин сої, пшениці, помідорів, жита.

Ми вивчали можливість стимулювати ріст рослин огірків за рахунок формування симбіозу із *T. melanosporum*. Оцінювали ростові параметри та вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах огірків за умов мікоризації *T. melanosporum* і на фоні різного забезпечення рослин Фосфором.

Для досліджень використовували рослини огірків сорту Моравський корнішон F1. Насіння стерилізували та витримували у суспензії гриба *Tuber melanosporum* упродовж 12 год. Колонізовані й неcolonізовані насінини висівали на поживне агаризоване середовище у чашки Петрі й у стерильний ґрунт. Ґрунт стерилізували висушуванням у сушильній шафі. Рослини вирощували у лабораторних умовах за інтенсивності освітлення 1200 лк, 2 °C та світлового періоду 16 год. Рослини підживлювали Фосфором у кількості 0,25 і 0,5 г/л. Уміст фотосинтезуючих пігментів визначали спектрофотометрично (Романюк та ін., 2005).

Аналіз росту рослин огірків за умов підживлення Фосфором або мікоризації грибом *T. melanosporum* виявив, що довжина коренів 5-добових рослин огірків за умов підживлення Фосфором була більшою на 28 %, а у разі мікоризації – на 40 %. Визначення вмісту пігментів фотосинтезу показало, що у листках рослин огірків із контролю вміст хлорофілів *a* і *b* становив 515 мкг/г, у листках рослин за умов підживлення Фосфором (0,5 г/л) – 997 мкг/г, а у листках мікоризованих рослин – 640 мкг/г сирової маси.

Отримані результати засвідчили, що мікоризація рослин огірків культурою гриба *T. melanosporum* позитивно позначається на рості рослин і вмісті у листках пігментів фотосинтезу та може бути альтернативою до підживлення рослин Фосфором.

**Приймак Ю., Смірнов О., Зінченко А.**

**ЕПІДЕРМАЛЬНИЙ ПАТЕРНІНГ ЛИСТКІВ ПШЕНИЦІ  
ДЛЯ ОЦІНКИ АДАПТИВНОЇ ПЛАСТИЧНОСТІ ЗА ДІЇ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ**

ННЦ «Інститут біології та медицини»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
вул. Володимирська, 64/13, м. Київ, 01601, Україна  
pryimak@knu.ua

**Pryimak Y., Smirnov O., Zinchenko A.** EPIDERMAL PATTERNING OF WHEAT LEAVES FOR THE EVALUATION OF AN ADAPTIVE PLASTICITY UNDER THE OSMOTIC STRESS. Epidermal patterning is a set of epidermal ultrastructure parameters. In the present study, two wheat varieties different by the adaptive potential to the drought were grown on the solutions with a negative osmotic potential. We provide a comparison between the traditional photochemical, biochemical, morphological parameters and the trichomes to stomata ratio. Epidermal patterning was found to be useful to evaluate the influence of the osmotic stress on plants.

Осмотичний стрес є одним із найзначніших абіотичних факторів, що знижує врожайність сільськогосподарських культур, зокрема, пшениці (*Triticum* sp.). Традиційно вплив посухи або засолення, що об'єднують під поняттям осмотичного стресу, оцінюють за морфологічними параметрами водного режиму рослин або фізіолого-біохімічними показниками.

Метою роботи є дослідити показники епідермальної ультраструктури – епідермальний патернінг, зокрема, відношення кількості трихом до кількості продихів, і порівняти їх ефективність у визначенні впливу осмотичного стресу на рослини з традиційними фізіолого-біохімічними параметрами.

Для дослідження обрали два сорти пшениці, що характеризуються різною стійкістю до осмотичного стресу, - сорт м'якої пшениці Подолянка (*Triticum aestivum* L.) і сорт пшениці двозернянки Голіковська (*Triticum dicoccum* (Schuebl.) Schrank).

Для моделювання умов осмотичного стресу проростки пшениці вирощували у розчинах із різною концентрацією NaCl та осмотичним потенціалом від -0.1 до -0.5 МПа. 7-добові проростки використовували для визначення фотохімічних (FPSII, NPQ, ETR), морфологічних параметрів, вмісту фотосинтетичних пігментів, показників епідермальної ультраструктури з використанням реплік епідермісу листка (довжина, ширина і площа продихів, довжина трихом, кількість продихів і трихом, відношення трихом до продихів, індекс потенційної провідності).

Змодельовані умови забезпечили помітне зниження FPSII у листках рослин пшениці сорту Подолянка в 1,6 разу, за дії осмотичного потенціалу -0,5 МПа порівняно з контролем. Порівняння змін фотохімічної активності у тканинах листків двох сортів пшениці підтверджує підвищену стійкість пшениці двозернянки до осмотичного стресу. Також було виявлено збільшення кількості продихів, кількості трихом і відношення кількості трихом до кількості продихів за умов осмотичного стресу. За осмотичного потенціалу -0,5 МПа кількісне співвідношення трихом до продихів було збільшене в 1,9 разу та в 1,7 разу порівняно з контролем у сортів Подолянка та Голіковська, відповідно. Результати показали, що параметри епідермальної ультраструктури є чутливими до дії осмотичного стресу та корелюють з фотохімічними показниками.

Методи визначення параметрів епідермальної ультраструктури більш доступні порівняно з традиційними методами оцінки впливу осмотичного стресу за фізіолого-біохімічними та фотохімічними параметрами. Водночас параметри епідермального патернінгу мають достатню ефективність щонайменше для попередніх висновків стосовно стійкості рослин пшениці досліджених сортів до дії посухи або засолення.

**Фецюх А., Пацула О., Буньо Л., Терек О.**

**РОЛЬ РИЗОСФЕРНИХ БАКТЕРІЙ *SALIX* SP. У МОБІЛІЗАЦІЇ  
ТА ФІТОЕКСТРАКЦІЇ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ НА ЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТАХ**

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

**Fetsiukh A., Patsula O., Bunio L., Terek O.** THE ROLE OF *SALIX* SP. PLANT-ASSOCIATED BACTERIA IN THE MOBILIZATION AND PHYTOEXTRACTION OF TRACE ELEMENTS IN CONTAMINATED SOILS. The article focuses on the role of plant-associated bacteria to enhance trace element availability in the rhizosphere. A promising approach to the purification of contaminated soils is the method of phytoextraction. The willow plants are ideal plants for this, as they are capable of growing in a wide range of natural conditions and have a well-developed root system.

Мікроорганізми, які знаходяться у ризосфері відіграють значну роль у взаємозв'язку між рослинами та ґрунтом, а також забезпечують стійкість рослин до стресів та підтримують живлення рослин (Barton

and Northup, 2011). 95 % усіх колонізуючих мікроорганізмів – це бактерії (Glick, 2012). Взаємодія рослин і мікроорганізмів, стосовно мікроелементів, в основному розглядається в контексті фітореємедіації (Salt et al., 1998). При фітореємедіації пріоритетними у використанні є види рослин із швидкими показниками росту та ті види, які виробляють велику біомасу і певною мірою нагромаджують мікроелементи.

Рослини верби є ідеальними рослинами для фітореємедіації, оскільки вони здатні рости в широкому діапазоні природних умов та мають більшу тривалість життя порівняно з трав'янистими рослинами (Гелетуха та ін, 2015). Цей вид дерева найбільш швидко росте в довжину (приріст за один день може досягати 3-5 см) (Піріков, 2016) та мають добре розвинену кореневу систему (Salam et al., 2016).

Ґрунт, забруднений важкими металами, став серйозною проблемою у всьому світі через геологічні та антропогенні дії. Важкі метали не розкладаються і зберігаються безперервно в навколишньому середовищі. Перспективним підходом до очищення забруднених ґрунтів є метод фітоекстракції (Glick, 2010). Особливістю методу є поглинання забруднювачів кореневою системою рослин разом з живильними речовинами й транслокація їх у надземні органи. По завершенню вегетації й транслокаційних процесів надземні органи рослин скошуюються й підлягають відповідній переробці (Окрушко, Стасюк, 2011).

Kuffner et al. (2010) виділили та охарактеризували стійкі до Zn ендofіти та бактерії ризосфери *S. caprea*, що накопичують Zn. В ризосфері було виявлено велику кількість брадиризобій, а також деяких представників Betaproteobacteria, Actinobacteria та *Bacteroidetes/Chlorobi*, а ендofітами здебільшого є *Sphingomonas spp.*, *Methylobacterium spp.* та актинобактерії. Kuffner et al. (2008) виявили позитивний вплив бактерій ризосфери на накопичення вмісту мікроелементів у рослин *S. caprea*. Мікробні інокулянти збільшували коефіцієнти транслокації Cd та Zn від коренів рослин до листків, вирощених у помірно забрудненому ґрунті (De Maria et al., 2011). Бактерії у ризосфері не впливали на накопичення Cd і Zn у листках рослин *S. viminalis*, але індукване мікроорганізмами збільшення біомаси призвело до збільшення загальної фітоекстракції мікроелементів (Veserra-Castro et al., 2012). Veserra-Castro та ін. (2012) оцінили вплив 14 штамів бактерій ризосфери, які є стійкими до Cd/Zn, на ріст та накопичення мікроелементів у органах рослин *S. viminalis*. Більшість штамів негативно впливали на ріст рослин верби і лише деякі (*Massilia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Rhodococcus sp.* та *Streptomyces sp.*) мали позитивний вплив на рослини. При інокуляції бактерій *Streptomyces sp.* (виділених із району видобутку Pb в Австрії) в поєднанні з грибом *Cadophora finlandica* у рослини *S. caprea* призвело до збільшення фітоекстракції Cd і Zn рослинами (De Maria et al., 2011).

Отже, роль мікрофлори рослин полягає у покращенні нагромадження металів, мобілізуючи мікроелементи в ґрунтах, збільшуючи тим самим фракцію біодоступності. Конкретні штами, що демонструють хорошу активність та колонізаційний потенціал, будуть корисні для посилення застосування фітоекстракції.

**Яценко А., Кіів Д., Картова Н., Станішевський І., Яремкевич О.**

**РІСТРЕГУЛЮВАЛЬНА ДІЯ ВОДОРозчинних КОМПОЗИЦІЙ ТІОСУЛЬФОЕСТЕРІВ І ТВІН-80**

Національний університет «Львівська політехніка»

вул. Ст. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна

andrii.yatsenko.bt.2017@lpnu.ua

**Yatsenko A., Kiiiv D., Kartova N., Stanishevskiy I., Yaremkevych O.** THE GROWTH REGULATOR ACTIVITY OF A WATER-SOLUBLE COMPOSITIONS OF THE THIOSULPHOESTERS AND TWIN-80. Biologically active compounds of 4-aminobenzo-thiosulfonic acids with ester aliphatic fragments (methyl, ethyl, propyl, allylic) and their complexes with TWIN-80 were investigated as potential bioregulators of plant growth. The highest growth promoting effects on the *Lepidium sativum* L. were revealed for 4-aminobenzenesulfonic acid ethyl ester and its complex with TWIN-80 (ETS and ETS + TWIN-80) at the concentration of 1 mg/dm<sup>3</sup>.

Проблема пошуку нових ефективних аналогів природних фунгіцидних препаратів, що не виявляють шкідливої дії на навколишнє середовище, залишається актуальною.

Аналогами головних компонентів цибулі та часнику, які визначають фунгіцидні та бактерицидні властивості цих рослин, є сірковмісні органічні сполуки, зокрема, різні естери 4-амінобензен-тіосульфоїкислоти. Попередні дослідження цих речовин виявили їхній рістрегулювальний вплив на рослини. Цей вплив можна використовувати для стимулювання росту сільськогосподарських культур у комплексі з інгібуванням паразитарних форм мікроорганізмів.

Було проведено дослідження дії сполук тіосульфатної природи загальної формули R-SO<sub>2</sub>-S-R<sup>1</sup> та їхніх новосинтезованих комплексів зі синтетичною поверхнево-активною речовиною (ПАР)ТВІН-80 на ростові процеси крес-салату (*Lepidium sativum* L.).

Оскільки тіосульфоестерам властива низька розчинність у воді, що ускладнює їхнє застосування, то використання вищезгаданих ПАР у комплексі з тіосульфатами (тіосульфат+ТВІН-80) дало би змогу підвищити їхню гідрофільність і ефективність дії на біологічні об'єкти.

Мета роботи - визначити й порівняти вплив метилового, етилового, пропілового та алілового естеру 4-амінобензентіосульфоїкислоти (МТС, ЕТС ПТС, АТС) і їхніх водорозчинних комплексів із ТВІН-80 (МТС+ТВІН, ЕТС+ТВІН, ПТС+ТВІН, АТС+ТВІН ) на параметри схожості насіння рослини крес-салату посівного (*Lepidium sativum* L.) і його морфометричні показники органів (кореня та пагону).

У роботі використано морфометричний метод і методику вивчення рістрегулювальної дії сполук на рослини в модифікації Сергеевої на агаризованому середовищі. Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням програми *Microsoft Excel*.

Результати досліджень показали високу схожість насіння крес-салату за дії АТС і МТС у всіх досліджуваних концентраціях (1, 10, 100 мг/дм<sup>3</sup>) і становили або були наближені до рівня контролю. У свою чергу, стимулювали зростання сходження насіння порівняно з контролем: ТВІН-80 у концентрації 100 мг/дм<sup>3</sup> на 14,7 % і 10 мг/дм<sup>3</sup> на 17,6 %; ЕТС у концентрації 10 мг/дм<sup>3</sup> на 14,7 % і 1 мг/дм<sup>3</sup> на 10,3 %; ЕТС+ТВІН у концентрації 100 мг/дм<sup>3</sup> на 5,9 %, 10 мг/дм<sup>3</sup> на 14,7 % і 1 мг/дм<sup>3</sup> на 13,2 %.

Аналіз морфометричних параметрів вказує на інгібуючу дію щодо розвитку пагона за використання чистих речовин у всіх концентраціях (окрім МТС – 1 мг/дм<sup>3</sup>), проте за використання комплексів тіосульфоестерів із ТВІН-80 показники були наближені до контрольних. Стимулювали ріст кореня речовини МТС і ТВІН-80 у концентрації 1 мг/дм<sup>3</sup>. Пригнічували розвиток кореня всі естери тіосульфокислоти і їхні комплекси у концентраціях 100 та 10 мг/дм<sup>3</sup> і комплекс МТС+ТВІН у концентрації 1 мг/дм<sup>3</sup>. Морфометричні показники довжин коренів і пагонів за дії всіх речовин зростали зі зниженням концентрації, тому доцільним є подальше визначення оптимальних концентрацій дії сполук.

**Roman I.<sup>1</sup>, Shalovylo Yu.<sup>2</sup>, Hrunyk N.<sup>2</sup>, Yusypovych Yu.<sup>2</sup>, Kovaleva V.<sup>2</sup>**

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE GENES OF SEED DEFENSINS OF SCOTS PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.)**

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

<sup>2</sup>Ukrainian National Forestry University, 103, Gen. Chuprynka St., Lviv, 79057, Ukraine  
romanjohn987@gmail.com

Under the conditions of global climatic changes and an increase in the technogenic load on forest ecosystems, the natural stability of trees decreases, and the qualitative composition of symbiotic microorganisms is changed, which leads to the activation of pathogenic agents that cause various diseases of woody plants. Since the basis of the forest-forming species in Ukraine is Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), the losses from the diseases of this plant are especially noticeable both economically and ecologically. A necessary condition for the effective fight against pine diseases is to find out the mechanisms of a pine resistance to biotic stress. It is known that a significant role in a plant disease protection, including pine, belongs to the antimicrobial peptides (AMPs), in particular defensins, as the best-characterized cysteine-rich AMPs in plants. Plant defensins are a family of the evolutionary conserved basic peptides with a length of 45-54 amino acid residues with a characteristic  $\beta\alpha\beta\beta$  structure. These peptides inhibit the growth of many phytopathogenic fungi and bacteria, as well as the activity of insect digestive enzymes and protein synthesis. All those features make them attractive candidates as a drug for the increasing of plant resistance to phytopathogens. Defensins have been intensively investigated in the angiosperms, but their role and functions in the gymnosperms remain poorly studied.

Up to date, the authors of this work identified six genes of defensins (PsDef1, PsDef2, PsDef3, PsDef4, PsDef5.1 and PsDef5.2) in Scots pine. But the structure and properties were studied in detail for the only one gene (PsDef1) products (Kovaleva et. al., 2009, 2011, Ermakova et al., 2016; Khairutdinov et al., 2017). In this work, we set a goal to disclose the structural and functional features of two pine defensins genes 5.1 and 5.2, the products of which were discovered by us in three-days old pine seedlings (Kovaleva et. al., 2013).

To study the expression levels of target genes in different tissues and organs, a total RNA was isolated from seed tissues, vegetative and generative organs of *Pinus sylvestris* L., and used as a template for cDNA synthesis by the reverse transcription polymerase chain reaction. The level of gene expression of the defensins was determined using multiplex PCR with primers for the target genes and a reference gene. The sequences of the PsDef5.1 and PsDef5.2 genes were obtained by PCR on a pine genomic DNA matrix followed by cloning and sequencing of amplified products by the standard procedures.

The transcripts of PsDef5.1 gene were found in tissues of immature seeds, three and eight-days old seedlings. This gene also expressed in the microstrobils and pollen of a 15-years-old pine, but gene expression not found in the tissues of the vegetative organs of this plant. The expression of the other gene (PsDef5.2) determined only in the seeds and the 3-days-old seedlings. Our results show that the expression of the PsDef5.1 and PsDef5.2 genes are organ-specific and occurs only at certain stages of the ontogenesis of *Pinus sylvestris* L.

Sequencing of the amplicons obtained on a pine genomic DNA matrix with primers specific for PsDef5.1 or PsDef5.2 cDNA showed that these two genes have the same length (366 bp) and structural organization: an intron 120 bp long divides the genes into two exons 66 bp long and 180 bp long. The homology level of the nucleotide sequences of the studied genes was 97, 2%. Bioinformatics analysis of the amino acid sequences of the defensins PsDef5.1 or PsDef5.2 showed that at a neutral pH these peptides have a high positive charge of 9.12. By modeling the three-dimensional structure of PsDef5.1 or PsDef5.2 using the Phyre and I-TASSER programs, we found that their structure is typical for defensins: the  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet of three antiparallel chains stabilized by a four disulfide bonds. This work supported by a joint grant from the Ministry of Education and Science of Ukraine and CRDF (#FSA3-19-65491-0).

## АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК / INDEX OF AUTHORS

**A**

Akhtaeva N., 64  
 Akulenko I., 149  
 Alfavitskyi O., 40  
 Andriishyn B., 114  
 Andriychuk E., 136  
 Andrushevych M., 172  
 Antonyak H., 102

**B**

Babenko L., 161  
 Babko A., 68  
 Babsky A., 15, 18, 19, 178, 180  
 Bahniuk O., 68  
 Balandiukh N., 114  
 Bandura Y., 40  
 Baranov V., 207  
 Basovska O., 28, 81  
 Batuieva Y., 205  
 Batyuk L., 13  
 Bayliak M., 179  
 Bdzhola V., 129, 132  
 Belaeva Ja., 49  
 Belaya L., 157  
 Beley L., 95  
 Berezovskyi V., 176  
 Beshley S., 207  
 Bezkorovayny A., 12  
 Beznis T., 174  
 Biliaiev I., 152  
 Bilivska V., 49  
 Bilko N., 131  
 Bizhanova N., 120  
 Bodnarchuk N., 12  
 Bodnar L., 74, 77, 145  
 Boichuk I., 121  
 Boichuk S., 50  
 Borschovetska V., 26, 27  
 Botserovska A., 69  
 Boyko L., 98  
 Boyko P., 138  
 Bratiichuk D., 125  
 Brodyak I., 30, 40, 42  
 Buchok Y., 70  
 Budzhak V., 50  
 Bukhonska Y., 205  
 Bulka I., 144, 159, 160  
 Bunio L., 210  
 Bura M., 13  
 Buriachenko S., 135  
 Buyun L., 44, 45, 152, 158, 163, 164, 165, 166, 189, 191, 193

**C**

Chaika Y., 119  
 Cheremshenko N., 151  
 Chipak S., 182  
 Chorna L., 81  
 Chumak A., 151  
 Chvikov V., 63

**D**

Danko Y., 206  
 Danylenko E., 106  
 Danyliuk O., 13  
 Danylyk R., 100  
 Darmostuk V., 64

Datsenka A., 157  
 Dazhuk A., 128  
 Dementieieva Y., 115  
 Deneka M., 72  
 Derevyanchuk M., 205  
 Derkachov V., 176  
 Detlaff A., 194  
 Diakiv S., 138  
 Didenko G., 151  
 Didenko O., 177  
 Dielieskie O., 207  
 Dmytriv T., 24, 176, 179  
 Dmytryshyn U., 25  
 Dobrianska I., 137, 141, 146  
 Dolya B., 93  
 Domsha O., 137  
 Dovban O., 29  
 Dovbeshko G., 15  
 Dovbnya M., 54  
 Drach Yu., 96, 103, 104  
 Drozd O., 73  
 Dubovtseva L., 129  
 Dubovyk O., 109  
 Duda O., 139  
 Dumych O., 95, 100  
 Dunich A., 168  
 Dutchak T., 26  
 Dyka M., 12  
 Dyka O., 56  
 Dykyy I., 7, 116  
 Dymura S., 129  
 Dzerzhynskyi M., 177  
 Dzhura N., 101  
 Džugan M., 184, 199  
 Dzydzan O., 30, 40, 42

**F**

Fafula R., 20  
 Fayura L., 47  
 Fediura T., 62  
 Fedorenko V., 68, 74, 82, 84, 86  
 Fedorko Yu., 133  
 Fedosova N., 151  
 Fedyniak M., 121  
 Ferents N., 56  
 Fetsiukh A., 210  
 Finiuk N., 18, 68, 74  
 Firlong O., 183, 187, 195  
 Folovko P., 28  
 Fomenko M., 63  
 Fomichov A., 154  
 Formanchuk R., 41  
 Frydrych A., 184  
 Furtak Kh., 39

**G**

Garasymiv O., 48  
 Garmanchuk L., 129  
 Girkova S., 180  
 Gladkih A., 53  
 Gnatyshyna L., 41, 42, 48  
 Golovatyuk A., 115, 119  
 Golovchak A., 54  
 Golub Y., 115  
 Góralczyk A., 152, 154, 155, 158, 163, 164, 165  
 Gordiienko I., 134  
 Gorna O., 175

Gorodna O., 83  
Gorshkova O., 147  
Grachev Y., 120  
Gretsky I., 139  
Gromyko O., 68, 74, 84, 86  
Grynyk I., 206  
Gyrenko O., 44, 152, 158, 163, 164, 165, 189, 191, 193

**H**

Hachkova H., 39  
Halan S., 172  
Halenova T., 43, 78  
Halushka A., 143, 148  
Hanyk Yu., 149  
Harasym N., 12, 18  
Harbuz D., 52, 152  
Harlinska E., 173  
Havryliuk O., 167  
Havrysh P., 51, 58  
Heneha A., 17  
Hertsyk D., 41  
Hetmański T., 203  
Hizetska O., 31  
Hnatush S., 137, 140, 141, 144, 146, 148, 149, 159, 160, 161  
Hoiisiuk Y., 89  
Holovan V., 136  
Holub N., 76  
Honcharenko V., 44, 45, 51, 57, 60, 62, 135, 154, 155, 166, 184, 186, 196, 198  
Horban D., 175  
Horenskyi H., 89  
Horunova I., 106  
Hovorukha V., 167  
Hrab P., 90, 145  
Hreniukh V., 19, 178, 180  
Hrondzal V., 12  
Hruba O., 125  
Hrunyk N., 212  
Hrushanyk N., 131  
Hryhorchuk D., 71  
Hrynenkiv Z.-M., 24

**I**

Ihnatenko M., 139  
Ikkert O., 178, 180  
Ishchak O., 140, 144  
Iskra R., 46  
Ivanets O., 122  
Ivanov R., 55  
Ivantsiv V., 27  
Ivatyo O., 74

**J**

Jarosiewicz A., 111  
Jarzyńska N., 183, 187, 194, 195  
Jupina D., 97

**K**

Kabalova D., 97  
Kachmar N., 148  
Kalanova S., 42  
Kalynovskyi V., 177  
Kanavod H., 157  
Kapran S., 15  
Karabanova O., 56  
Karachkovska A., 74  
Karaman O., 151  
Karmash O., 28, 31, 39

Karpinets L., 207  
Karpov P., 83  
Kartova N., 142, 211  
Kashuba E., 127  
Kashuba L., 159, 160  
Kaverinska A., 188  
Ketsa O., 26, 35  
Kharchenko I., 158, 189  
Kharchenko Y., 21, 22, 90  
Khita O., 128  
Khoma V., 41, 42, 48  
Khomyi I., 56  
Khudych A., 63  
Khymyn O., 108  
Kiiv D., 142, 211  
Kit I., 95  
Klimovich V., 157  
Klymyshyn N., 47  
Klyuchivska O., 68  
Kniazieva K., 75  
Kobyletska M., 206, 207  
Kolybo D., 130, 144  
Komarovska-Porokhnyavets O., 142  
Komplikevych S., 144, 159, 160, 161  
Kondratiuk V., 73, 143  
Konechna R., 70  
Konechnyi Y., 84, 145  
Kopteva T., 161  
Kopylchuk H., 36  
Korbozova N., 64  
Kornatska O., 98  
Koshla O., 83  
Kotliarova A., 14, 181  
Kotyk O., 14, 181  
Kovaleva A., 97  
Kovaleva V., 212  
Kovalevska L., 127  
Koval N., 95  
Kovalska L., 152  
Kovtun V., 99  
Kowalczyk B., 93, 162  
Kozachuk I., 41  
Kozak T., 126, 142  
Kozlovskyy V., 208  
Krasnenkov D., 15  
Kravchuk H., 76  
Kravets V., 205  
Krenytska D., 28  
Krychowiak-Maśnicka M., 41  
Krynina O., 130  
Kryshchysyn-Dylevych A., 74  
Kucharska A., 40, 42  
Kuchuk M., 89  
Kudrina N., 64  
Kulchytska O., 98  
Kulishko N., 140, 144  
Kulyk Ya., 144  
Kurhaluk N., 44, 45, 152, 154, 155, 157, 158, 163, 164, 165, 166, 183, 184, 186, 187, 189, 191, 193, 194, 195, 196, 198, 200, 202, 203  
Kurutos A., 22  
Kurylenko O., 125  
Kurysheva O., 15  
Kushnir G., 16  
Kushnir I., 150  
Kutsiv L., 95  
Kuzema N., 100  
Kuzhyk Y., 70

Kuzmina A., 56  
Kuźniar A., 208  
Kvas I., 137, 141, 146  
Kyriachenko Y., 43

**L**

Lahodniuk I., 131  
Lapida O., 16  
Lapkin A., 162, 169  
Lavriv J., 122  
Lazarenko L., 161  
Laziuka Y., 90  
Lekhniuk N., 77, 145  
Lemyk A., 57  
Leshchenko Yu., 65  
Lesiv M., 102  
Lesyk R., 74  
Levandivska S., 77  
Liashenko V., 172, 173  
Liashuk I., 78  
Liuta M., 28, 30, 31  
Livshyts L., 83  
Loboiko D., 91  
Loktionova H., 29  
Lozhko D., 83  
Lozynska S., 17  
Luchka D., 58  
Lugovnev A., 92  
Lukashchuk O., 190  
Lukashov S., 132  
Lukianova N., 127  
Lupan V., 126, 142  
Lushchak L., 42  
Luzhetskyy A., 8  
Lykhova A., 126, 142  
Lylyk M., 24, 176, 179  
Lytvynova Y., 168

**M**

Mackiv T., 41, 42  
Makar O., 208  
Makarova M., 191  
Małek A., 183, 187, 195  
Mamchur Z., 103, 104, 108  
Mandzynets S., 13  
Manko B., 172, 182, 200  
Manko V., 172, 182, 200  
Marchenko M., 26, 27  
Marchenko S., 14, 181  
Martinyuk V., 41, 42, 48  
Martsiv M., 117  
Martyniak A., 92  
Maryniuk M., 44, 158, 163, 164, 165, 189, 191, 193  
Maslakova A., 28  
Maslovska O., 140, 144, 159, 160, 161  
Matsevko M., 122  
Matys I., 131  
Mazur M., 172  
Mediantsev A., 29  
Medina I., 8  
Megalinska A., 97, 106  
Melnykova O., 161  
Melnyk R., 178  
Melnyk S., 79  
Meniv N., 148  
Merlavskyy V., 172  
Meskalo O., 20  
Mieshkov Ya., 51, 58

Mishchenko L., 168  
Mitina N., 18  
Mizin V., 172, 173  
Morgun B., 89  
Moroz A., 30, 42  
Moroz O., 137, 141, 146, 149, 159, 160  
Mudrikuv D., 137, 141, 146  
Mukha I., 171  
Musii L., 150  
Muyassarova K., 31  
Mykutska I., 31  
Mykytyn M., 148  
Mykytyn V., 12

**N**

Nachychko V., 154, 155, 184, 186, 196, 198  
Nagalievska M., 25, 33  
Nahlov O., 179  
Najbar B., 113  
Naumenko K., 169, 170, 171  
Nedial I., 59  
Nekhluda L., 60  
Novikov V., 70  
Novosiadla Z., 79  
Nyc W., 194  
Nykolaichuk I., 32, 35

**O**

Olefirenko V., 92  
Opryshko M., 44, 158, 163, 164, 165, 189, 191, 193  
Osadowski Z., 45, 66, 154, 155, 166, 184, 186, 196, 198  
Osmólska U., 9  
Ostapiv R., 182, 190  
Ostash B., 69, 70, 72, 79, 82, 83, 90, 93  
Ostash I., 72, 77, 82, 88, 93  
Ostrovska G., 129  
Otchych V., 16  
Ovcharenko O., 89

**P**

Pakharenko M., 131  
Paliychuk V., 32  
Pałubicka A., 194  
Palusińska-Szyszk M., 162  
Patsula O., 208, 210  
Pavlyshak Y., 61  
Pavlyshyn I., 60  
Pawlicka K., 183, 187, 195  
Pękala-Safińska A., 166  
Peretyatko T., 105, 135, 139, 159, 160  
Petrina R., 72, 75  
Petryn T., 33  
Pirko N., 71  
Pirko Y., 71  
Pisarev S., 117  
Platonov M., 169  
Plyhun V., 80  
Podan I., 101  
Poliakova Ye., 81  
Poliezhaiev I., 55  
Polishchuk O., 102  
Politylo O., 18  
Poluiko A., 81  
Popko I., 82  
Popovych M., 15, 18  
Poshelyuk A., 147  
Potychko S., 209  
Pozdnyy E., 60

Prokopchuk J., 79  
Prokopiv A., 44, 45, 58, 62, 154, 155, 166, 184, 186,  
196, 198  
Prokopiv N., 103  
Protopopov M., 129, 132  
Pryimak Y., 210  
Prytula S., 103  
Pustovalov A., 177  
Putivskiy I., 167  
Pysanchyn O., 33  
Pytel S., 118  
Pyžuk Z., 9

**R**

Rabokon A., 71  
Radysh N., 147  
Raksha N., 43, 81  
Raspopyna A., 18  
Rebets Y., 8  
Reshetylo O., 114  
Revkevych I., 104  
Rizun H., 149  
Rogozina I., 105  
Roman I., 207, 212  
Romanov S., 34  
Romanyuk N., 208  
Rudnytska O., 128  
Rydkin O., 83  
Ryzhykova M., 129

**S**

Sabadashka M., 34, 37, 40, 41  
Sahno A., 48  
Sakulych K., 148  
Samaryk V., 190  
Samuliak O., 35  
Sanagursky D., 12, 18  
Sarabun V., 178  
Sarai I., 133  
Savchuk O., 78  
Savosko V., 54, 56, 60  
Semak U., 106  
Semaniuk D., 123  
Semenyuk T., 102  
Seniv M., 42  
Serga S., 87  
Serhiychuk T., 149  
Serkov E., 106  
Shakun D., 86  
Shalai Ya., 15, 18, 19, 20  
Shalovylo Yu., 212  
Shariy T., 16  
Shchepotieva D., 29  
Shcherbina V., 134  
Shchuka M., 21, 22  
Shchur O., 22  
Shemediuk A., 86  
Shermolovych Yu., 170  
Shevchenko T., 154  
Shevchyk V., 59  
Shkliar A., 87  
Shlapatska L., 134  
Shostak M., 200  
Shparyk V., 121, 122  
Shtyk O., 108  
Shvets V., 182  
Shyyka O., 68  
Sidor E., 184, 199

Sira O., 64  
Sirokha D., 83  
Siromolot A., 144  
Skovorodka M., 149  
Skrotska O., 90  
Skrzypkowski K., 194  
Skvortsova M., 84  
Skyrpan I., 118  
Slyvka I., 150  
Smirnov O., 210  
Sobisz Z., 66  
Sokhanchak R., 207  
Sokołowski W., 93, 94, 162  
Sopko V., 61  
Sopushynska T., 62  
Soriuk V., 36  
Soroka V., 35  
Sosnovsky Y., 154, 196, 198  
Sova N., 19  
Sovinska R., 168  
Spivak M., 161  
Spryn K., 37  
Stakhera I., 139  
Stanishevskiy I., 142, 211  
Starodub H., 131  
Starosyla S., 132  
Stasyk O. G., 125, 131, 133  
Stasyk O. V., 125, 131, 133  
Stehniy B., 135  
Stoika R., 18, 74  
Stoiko A.-M., 180  
Stoliar O., 41, 42, 48  
Strashko S., 97  
Striamets H., 114  
Strilets N., 24, 176, 179  
Strugała P., 30  
Strus V., 114  
Strus Y., 114  
Stus J., 38  
Sudarenko Y., 179  
Sushko O., 46  
Suslov H., 149  
Svydenko L., 137  
Svyrydenko M., 68  
Svysch I., 47  
Sybirna N., 25, 28, 30, 31, 33, 34, 37, 40, 41, 42, 125  
Symchych T., 151  
Syrvatka V., 74, 86  
Szymjda S., 9  
Szuster-Ciesielska A., 162

**T**

Tarabara U., 21, 22  
Tarhovskiy B., 78  
Tarnopolska O., 181  
Tarnovska A., 17  
Tashyrev O., 167  
Telehii L., 107  
Terek O., 208, 210  
Terletskaya N., 64  
Teterina S., 126  
Timchenko Y., 77  
Tistechok S., 68, 84  
Tkachenko H., 9, 44, 45, 152, 154, 155, 157, 158, 163,  
164, 165, 166, 183, 184, 186, 187, 189, 191, 193,  
194, 195, 196, 198, 200, 202, 203  
Tolstanova G., 149  
Tretiak N., 131



Troshyn A., 115, 119  
Truchan M., 66, 157  
Trusova V., 21, 22  
Tsaryk Yo., 108  
Tseduliak V.-M., 93  
Tsehelyk H., 139  
Tsioma I., 135  
Tsisaryk O., 150  
Tsoma I., 51  
Tsvilyniuk O., 95, 107  
Tymchuk I., 84  
Tymofieiev O., 19, 20  
Tytenko N., 85

**U**

Udovychenko I., 43  
Ursatyi M., 38

**V**

Vashchenko O., 21  
Vasheka O., 59  
Vasilchuk O., 97  
Vasina Y., 162, 169  
Vasylieva V., 92  
Vdovin V., 132  
Velychko O., 209  
Venger A., 162, 169  
Venger O., 162, 169  
Verkholiak N., 105  
Vidybida A., 22  
Vizichkanuch I., 12  
Voitovych M., 51, 135  
Voliuvach O., 147  
Volkova R., 53  
Voloshchuk O., 24, 38  
Vorobets N., 137  
Vorobets Z., 20  
Vovkolup K., 127  
Voznyuk A., 70  
Vus K., 21, 22  
Vydasov N., 126, 142  
Vynarchyk N., 95  
Vysokosova A., 175

**W**

Wieczorek M., 113  
Włodarczyk K., 93, 94

**Y**

Yaremchuk M., 12  
Yaremkevych O., 211  
Yarmoluk S., 129, 132  
Yatsenko A., 142, 211  
Yavorska G., 137, 141, 146  
Yefimenko N., 31  
Yeromenko D., 177  
Yunko K., 48  
Yurchenko A., 28  
Yusyp I., 88  
Yusypovych Yu., 212

**Z**

Zadvornyi T., 127  
Zagorodnya S., 169, 170, 171  
Zahorodnia D., 72  
Zahorodnyi I., 116  
Zaichenko O., 13, 18  
Zaika Ye., 73  
Zamoroka A., 121, 123

Zaremba A., 169, 170  
Zaremba P., 169, 170, 171  
Zaychenko O., 169, 170, 171  
Zelinska M., 26  
Zhuk O., 60  
Zhytniakivska O., 21, 22  
Zinchenko A., 210  
Zinchuk M., 138  
Zinkovska V., 140  
Zorkot L., 14  
Zub A., 182, 200  
Zvir G., 149  
Zyn A., 18

**А**

Акуленко І., 149  
Андрішин Б., 114  
Андрійчук О., 136  
Андрушевич М., 172  
Антоняк Г., 102

**Б**

Бабко А., 68  
Бабський А., 15, 18, 19, 178, 180  
Багнюк О., 68  
Байляк М., 179  
Баландюх Н., 114  
Баранов В., 207  
Басовська О., 28, 81  
Батуєва С., 205  
Батюк Л., 13  
Бджола В., 129, 132  
Безкоровайний А., 127  
Безніс Т., 174  
Белей Л., 95  
Березовський В., 176  
Бесчасний С., 127  
Бешлей С., 207  
Белаєва Я., 49  
Білівська В., 49  
Білько Н., 131  
Боднар Л., 74, 77, 145  
Боднарчук Н., 12  
Бойко Л., 98  
Бойко П., 138  
Бойчук С., 50  
Борщовецька В., 26, 27  
Боцеровська А., 69  
Братійчук Д., 125  
Бродяк І., 30  
Буджак В., 50  
Булка І., 144  
Буньо Л., 210  
Бура М., 13  
Буряченко С., 135  
Бухонська Я., 205  
Бучок Ю., 70

**В**

Васильчук О., 97  
Вашека О., 59  
Вдовін В., 132  
Величко О., 209  
Верхоляк Н., 105  
Видасов Н., 126, 142  
Винарчик Н., 95  
Високосова А., 175  
Височанська М., 127  
Візічканич І., 12  
Вовколуп К., 127  
Вознюк А., 70  
Войтович М., 51, 135  
Волкова Р., 53  
Волощук О., 24, 38  
Волювач О., 147  
Воробець Н., 137

**Г**

Гавриш П., 51, 58  
Галан С., 172  
Галенова Т., 78  
Галушка А., 143, 148

Гарасим Н., 12, 18  
Гарбуз Д., 52  
Гарлінська Е., 173  
Гарманчук Л., 129  
Гачкова Г., 39  
Генега А., 17  
Гіжецька О., 31  
Гіркова С., 180  
Гладкіх А., 53  
Гнатуш С., 137, 140, 141, 144, 146, 148, 149  
Головань В., 136  
Головатюк А., 115, 119  
Головчак А., 54  
Голуб Н., 76  
Голуб Ю., 115  
Гончаренко В., 51, 57, 60, 62, 135  
Горбань Д., 175  
Горна О., 175  
Городна О., 83  
Горшкова О., 147  
Горюнова І., 106  
Граб П., 145  
Гренюх В., 15, 19, 178, 180  
Грецький І., 139  
Григорчук Д., 71  
Гриненьків З.-М., 24  
Гриник І., 206  
Громико О., 68, 74  
Грондзаль В., 12  
Груба О., 125  
Грушаник Н., 131

**Д**

Дажук А., 128  
Даниленко Є., 106  
Данилик Р., 100  
Данилюк О., 13  
Данко Ю., 206  
Дементєєва Я., 115  
Денека М., 72  
Дерев'янчук М., 205  
Деркачов В., 176  
Делеске О., 207  
Джупина Д., 97  
Джура Н., 101  
Дзержинський М., 177  
Дзидзан О., 30  
Дика М., 12  
Дика О., 56  
Дикий І., 7, 116, 117  
Димура С., 129  
Діденко Г., 151  
Діденко О., 177  
Дмитришин У., 25  
Дмитрів Т., 24, 176, 179  
Добрянська І., 137, 141, 146  
Довбань О., 29  
Довбешко Г., 15  
Довбня М., 54  
Домша О., 137  
Драч Ю., 96, 103, 104  
Дрозд О., 73  
Дубовцева Л., 129  
Дуда О., 139  
Думич О., 100  
Дутчак Т., 26  
Дяків С., 138

**Є**

Єрмоєнко Д., 177  
Єфіменко Н., 31

**Ж**

Жук О., 60

**З**

Загородний І., 116  
Загородня Д., 72  
Задворний Т., 127  
Заїченко О., 13, 18  
Заїка Є., 73  
Звір Г., 149  
Зелінська М., 26  
Зинь А., 18  
Зінченко А., 210  
Зінчук М., 138  
Зіньковська В., 140  
Зоркот Л., 14

**І**

Іванов Р., 55  
Іванців В., 27  
Івасько О., 74  
Ігнатенко М., 139  
Іккерт О., 178, 180  
Іщак О., 140, 144

**К**

Кабалова Д., 97  
Калиновський В., 177  
Капран С., 15  
Карабанова О., 56  
Караман О., 151  
Карачковська А., 74  
Кармаш О., 28, 31, 39  
Карпінєць Л., 207  
Карпов П., 83  
Картова Н., 142, 211  
Качмар Н., 148  
Кашуба О., 127  
Квас І., 137, 141, 146  
Кеца О., 26, 35  
Кіїв Д., 142, 211  
Кіт І., 95  
Ключівська О., 68  
Князєва К., 75  
Кобилецька М., 206, 207  
Ковалєвська Л., 127  
Ковальова А., 97  
Ковтун В., 99  
Козак Т., 126, 142  
Козловський В., 208  
Колибо Д., 130, 144  
Комаровська-Порохнявець О., 142  
Комплікевич С., 144  
Кондратюк В., 73, 143  
Конечна Р., 70  
Конечний Ю., 145  
Копильчук Г., 36  
Корнацька О., 98  
Котик О., 14, 181  
Котлярова А., 14, 181  
Кошла О., 83  
Кравець В., 205  
Кравчик Г., 76  
Красенков Д., 15

Креницька Д., 28  
Криніна О., 130  
Крицишин-Дилевич А., 74  
Кужик Ю., 70  
Кузема Н., 100  
Кузняр А., 208  
Кузьміна А., 56  
Кулик Я., 144  
Кулішко Н., 140, 144  
Кульчицька О., 98  
Куриленко О., 125  
Куришева О., 15  
Кущів Л., 95  
Кушнір Г., 16  
Кушнір І., 150

**Л**

Лагоднюк І., 131  
Лапіда О., 16  
Лебідь А., 127  
Левандівська С., 77  
Лемик А., 57  
Лесик Р., 74  
Лесів М., 102  
Лехнюк Н., 77, 145  
Лилик М., 24, 176, 179  
Лихова О., 126, 142  
Лівшиць Л., 83  
Ложко Д., 83  
Лозинська С., 17  
Локтіонова Г., 29  
Лукашов С., 132  
Лук'янова Н., 127  
Лупан В., 126, 142  
Лучка Д., 58  
Люта М., 28, 30, 31  
Ляшенко В., 172, 173  
Ляшук І., 78

**М**

Мазур Г., 172  
Макар О., 208  
Мамчур З., 103, 104, 108  
Мандзинець С., 13  
Манько Б., 172  
Манько В., 172  
Марців М., 117  
Марченко М., 26, 27  
Марченко С., 14, 181  
Маслакова А., 28  
Масловська О., 140, 144  
Матис І., 131  
Мегалінська А., 97, 106  
Мегалінська Г., 97  
Медянець О., 29  
Мельник Р., 178  
Мельник С., 79  
Менів Н., 148  
Мерлавський В., 172  
Мешков Я., 51, 58  
Микитин В., 12  
Микитин М., 148  
Микуцька І., 31  
Мізін В., 172, 173  
Мітіна Н., 18  
Мороз А., 30  
Мороз О., 137, 141, 146, 149  
Мудрікув Д., 137, 141, 146

Мусій Л., 150  
Муяссарова К., 31

## Н

Нагалєвська М., 25, 33  
Наглов О., 179  
Недял І., 59  
Нехлюда Л., 60  
Николайчук І., 32, 35  
Новіков В., 70  
Новосядла З., 79

## О

Осташ Б., 69, 70, 72, 79, 82, 83  
Осташ І., 72, 77, 82, 88  
Островська Г., 129  
Отчич В., 16

## П

Павлишак Я., 61  
Павлишин І., 60  
Палійчук В., 32  
Пахаренко М., 131  
Пацула О., 208, 210  
Перетятко Т., 105, 135, 139  
Петрин Т., 33  
Петріна Р., 72, 75  
Писанчин О., 33  
Питель С., 118  
Пірко Н., 71  
Пірко Я., 71  
Пісарєв С., 117  
Плигун В., 80  
Подан І., 101  
Поздній Є., 60  
Полежаєв І., 55  
Політило О., 18  
Поліщук О., 102  
Полуйко А., 81  
Полякова Є., 81  
Попко І., 82  
Попович М., 15, 18  
Потичко С., 209  
Пошелюк А., 147  
Приймак Ю., 210  
Притула С., 103  
Прокопів А., 58, 62  
Прокопів Н., 103  
Прокопчук Ю., 79  
Протопопов М., 129, 132  
Пустовалов А., 177

## Р

Рабокось А., 71  
Радиш Н., 147  
Ракша Н., 81  
Распопіна А., 18  
Ревкевич І., 104  
Решетило О., 114  
Ридкін О., 83  
Рижикова М., 129  
Різун Г., 149  
Рогозіна І., 105  
Роман І., 207  
Романов С., 34  
Романюк Н., 208  
Рудницька О., 128

## С

Сабадашка М., 34, 37  
Савосько В., 54, 56, 60  
Савчук О., 78  
Сакулич Х., 148  
Самуляк О., 35  
Санагурський Д., 12, 18  
Сарабун В., 178  
Сарай І., 133  
Свиденко Л., 137  
Свириденко М., 68  
Семак У., 106  
Семенюк Т., 102  
Серга С., 87  
Сергійчук Т., 149  
Серков Е., 106  
Сибірна Н., 25, 28, 30, 31, 33, 34, 37, 125  
Симчич Т., 151  
Сирватка В., 74, 86  
Сіромолот А., 144  
Сіроха Д., 83  
Скирпан І., 118  
Сквородка М., 149  
Сливка І., 150  
Смірнов О., 210  
Сова Н., 19  
Сопко В., 61  
Сопушинська Т., 62  
Сорока В., 35  
Сорюк В., 36  
Соханьчак Р., 207  
Спринь Х., 37  
Станішевський І., 142, 211  
Стародуб Г., 131  
Старосила С., 132  
Стасик О. В., 125, 131, 133  
Стасик О. Г., 125, 131, 133  
Стахера І., 139  
Стегній Б., 135  
Стойка Р., 18, 68, 74  
Стойко А.-М., 180  
Страшко С., 97  
Стрілець Н., 24, 176, 179  
Стругала П., 30  
Струс В., 114  
Струс Ю., 114  
Стрямець Г., 114  
Стус Ю., 38  
Сударенко Ю., 179  
Суслов Г., 149

## Т

Тарговський Б., 78  
Тарновська А., 17  
Тарнопольська О., 181  
Телегій Л., 107  
Терек О., 208, 210  
Тетеріна С., 126  
Тимофєєв О., 19, 20  
Тимченко Ю., 77  
Титенко Н., 85  
Тістечок С., 68  
Толстанова А., 149  
Третьак Н., 131  
Трошин А., 115, 119

## У

Урсагий М., 38

**Ф**

Федоренко В., 68, 74, 82, 86  
Федосова Н., 151  
Федюра Т., 62  
Ференц Н., 56  
Фецюх А., 210  
Фінюк Н., 18, 68, 74  
Фоловко П., 28  
Фоменко М., 63  
Фуртак Х., 39

**Х**

Ханик Ю., 149  
Химин О., 108  
Хіта О., 128  
Хомин І., 56  
Худич А., 63

**Ц**

Царик Й., 108  
Цвлинюк О., 95, 107  
Цегелик Г., 139  
Цісарик О., 150  
Цьома І., 51, 135

**Ч**

Чайка Ю., 119  
Чвіков В., 63  
Черемшенко Н., 151  
Чорна Л., 81  
Чумак А., 151

**Ш**

Шакун Д., 86  
Шалай Я., 15, 18, 19, 20  
Шарій Т., 16  
Швець В., 182  
Шевчик В., 59  
Шемедюк А., 86  
Шийка О., 68  
Шкляр А., 87  
Штик О., 108

**Щ**

Щепотьєва Д., 29

**Ю**

Юрченко О., 28  
Юсип І., 88

**Я**

Яворська Г., 137, 141, 146  
Яремкевич О., 211  
Яремчук М., 12  
Ярмолюк С., 129, 132  
Яценко А., 142, 211

Наукове видання

**Молодь і поступ біології**

Тези доповідей

XVI Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів,  
присвяченої 75 річниці створення біологічного факультету  
Львівського національного університету ім. І. Франка  
та 90 річниці від дня народження проф. М.П. Деркача  
27–29 квітня 2020 р року, м. Львів

**Редактор** – Сідлович Л. І.

**Комп'ютерна верстка** – Демчук В. Л.

**Відповідальний за випуск** – Тарновська А. В.

**Youth and Progress of Biology**

Abstracts

of XVI International Scientific Conference for Students and PhD Students,  
dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology  
of Ivan Franko national university of Lviv  
and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach  
April 27–29, 2020, Lviv, Ukraine

**Editor** – Sidlovych L. I.

**Page proof** – Demchuk V. L.

**Responsible for the publication** – Tarnovska A. V.

Підп. до друку 21.04.2020. Формат 60×84/8.  
Умовн. друк. арк. 27,5. Тираж 130 прим.