

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА  
МІНІСТЕРСТВО НАУКИ І ВИЩОЇ ОСВІТИ ПОЛЬЩІ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТА НАУК ПРО ЗЕМЛЮ ПОМОРСЬКОЇ АКАДЕМІЇ В  
СЛУПСЬКУ

# МОЛОДЬ І ПОСТУП БІОЛОГІЇ

XVIII МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ  
СТУДЕНТІВ І АСПІРАНТІВ

присвячена 195-річчю від дня народження Юліуса Планера  
(ЛЬВІВ, 6-7 ЖОВТНЯ 2022 РОКУ)

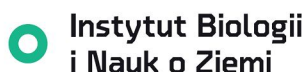
**ЗБІРНИК ТЕЗ**



Львівський національний  
університет імені Івана Франка



Біологічний факультет Львівського  
національного університету імені Івана  
Франка



Інститут біології та наук про Землю



Поморська Академія в Слупську  
(Польща)

# eXplogen

ЛЬВІВ, СПОЛОМ, 2022

УДК 57(043.2)

Мол 75

**Молодь і поступ біології:** збірник тез доповідей XVIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів присвяченої 195-річчю від дня народження Юліуса Планера (м. Львів, 6-7 жовтня 2022 р.). – Львів: СПОЛОМ, 2022. – 178 с.

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

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

*Організатори конференції висловлюють подяку за підтримку компанії «Експлоджен» та Українсько-американському добродійному фонду «Сейбр-Світло».*

**Youth and Progress of Biology:** Abstracts of XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students dedicated to the 195th anniversary from the birthday of Julius Planer (Lviv, October 6–7, 2022). – Lviv: SPOLOM, 2022. – 178 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 company “Explogen LLC” and Ukrainian-American beneficial foundation «Seibr-Svitlo».*

**Editorial board:** Honcharenko V., Khamar I., Syrvatka V., Demchuk V., Tkachenko H., Andreychuk R., Sabadashka M., Kachor A., Kavulych Y., Komplikevych S., Nazaruk K., Prytula S., Fedas I., Shalay Y.

**Scientific committee:** prof. Babsky A., prof. Hnatush S., ass. prof. Honcharenko V., ass. prof. Mamchur Z., prof. Manko V., prof. Sybirna N., ass. prof. Kobyletska M., prof. Tkachenko H., prof. Fedorenko V., prof. Tsaryk Y.

© Львівський національний університет імені Івана Франка, 2022

© Інститут біології та наук про Землю Поморської Академії в Слупську, 2022

© Ivan Franko National University of Lviv, 2022

© Institute of Biology and Earth Sciences Pomeranian University in Slupsk, 2022

**ISBN 978-617-7809-39-4**

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE  
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV  
MINISTRY OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION OF REPUBLIK OF  
POLAND  
INSTITUTE OF BIOLOGY AND EARTH SCIENCES  
POMERANIAN UNIVERSITY IN SLUPSK

# YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY

XVIII INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE  
FOR STUDENTS AND PHD STUDENTS  
dedicated to the 195<sup>th</sup> anniversary from the birthday of Julius Planer  
(LVIV, OCTOBER 6-7, 2022)  
**ABSTRACTS**



Ivan Franko National University of Lviv



Institute of Biology and Earth Sciences



Faculty of Biology of Ivan Franko National  
University of Lviv



Pomeranian University in Slupsk



### **Голова оргкомітету конференції**

Гладишевський Р. академік 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, доктор, 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

Сирватка В. доцент, кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка

### **Науковий комітет**

Бабський А. професор, 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

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

Кобилецька М. доцент, завідувач кафедри фізіології рослин 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

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

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

### **Секретаріат**

Сирватка В. голова секретаріату, доцент кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка

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

Демчук В.	інженер лабораторії математичних методів в біології Львівського національного університету імені Івана Франка
Качор А.	аспірант, кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка
Кавулич Я.	к.б.н., інженер кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка
Комплікевич С.	аспірант кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка
Назарук К.	доцент кафедри зоології Львівського національного університету імені Івана Франка
Притула С.	аспірант кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Сабадашка М.	к.б.н., доцент кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка
Федас І.	старший лаборант кафедри фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка
Шалай І	доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка

#### Рецензенти

Антоняк Г.	д.б.н., професор кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Бродяк І.	к.б.н., доцент кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка
Бура М.	к.б.н., доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка
Галушка А.	к.б.н., доцент кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка
Гарасим Н.	к.б.н., доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка
Гачкова Г.	к.б.н., доцент кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка
Генега А.	к.б.н., доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка
Гончаренко В.	к.б.н., доцент, завідувач кафедри ботаніки Львівського національного університету імені Івана Франка
Джура Н.	к.б.н., доцент кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Дика М.	к.б.н., доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка
Драч Ю.	асистент кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Думич О.	к.б.н., доцент кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Капрусь І.	д.б.н., професор кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Люта М.	к.б.н., доцент кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка
Мамчур З.	к.б.н., доцент, завідувач кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Мамчур О	к.с-г.н., доцент кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка

Манько В.	д.б.н, професор, завідувач кафедри фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка
Масловська О	к.б.н., доцент кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка
Назарук К.	к.б.н., доцент кафедри зоології Львівського національного університету імені Івана Франка
Перетятко Т.	к.б.н., доцент кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка
Сабадашка М.	к.б.н., доцент кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка
Стасик О.	к.б.н., доцент кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка
Тарновська А.	к.б.н., доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка
Федоренко В.	д.б.н, професор, завідувач кафедри генетики та біотехнології Львівського національного університету імені Івана Франка
Цвілинюк О.	к.б.н., доцент кафедри екології Львівського національного університету імені Івана Франка
Шалай Я	доцент кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка
Шидловський І.	к.б.н., доцент кафедри зоології Львівського національного університету імені Івана Франка

#### **Head of the Organizing Committee**

Gladyshevskii R.	academician 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, dr hab., director of the Institute of Biology and Environmental Protection of Pomeranian University in Slupsk
Honcharenko V.	associate professor, head of the Department of Botany, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University in educational and methodical work
Syrvatka V.	associate professor at the Department of Genetic and Biotechnology of Ivan Franko National University of Lviv

#### **Scientific Committee**

Babsky A.	professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Biophysics and Bioinformatics 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
Hnatush S.	professor, head of the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv
Honcharenko V.	associate professor, head of the Department of Botany, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University

“Youth and Progress of Biology”, Lviv, October 6–7, 2022

- Kobyletska M. associate professor, head of the Department of Plants Physiology and Ecology 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
- Tkachenko H. professor, dr hab., head of the Department of Biology, vice-director of the Institute of Biology and Environmental Protection of Pomeranian University in Slupsk
- Tsaryk Y. professor, doctor of biological sciences, head of the Department of Zoology of Ivan Franko National University of Lviv

#### **Secretariat**

- Syrvatka V. head of the secretary, associate professor at the Department of Genetics and Biotechnology of Ivan Franko National University of Lviv
- Andreychuk R. PhD student at the Department of Botany of Ivan Franko National University of Lviv
- Demchuk V. engineer at the Laboratory of Mathematic Methods in Biology of Ivan Franko National University of Lviv
- Kachor A. PhD student at the Department of Genetics and Biotechnology of Ivan Franko National University of Lviv
- Kavulych Y. PhD, engineer at the Department of Plants Physiology and Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
- Komplikevych S. PhD student at the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv
- Nazaruk K. Associate professor at the Department of of Zoology of Ivan Franko National University of Lviv
- Prytula S. PhD student at the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
- Fedas I. senior laboratory assistant at the Department of Human and Animals Physiology of Ivan Franko National University of Lviv
- Sabadashka M. PhD, associate professor at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv
- Shalay Y. associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatics of Ivan Franko National University of Lviv

#### **Reviewers**

- Antonyak H. doctor of biological sciences, professor of the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
- Brodyak I. PhD, associate professor at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv
- Bura M. PhD, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatic of Ivan Franko National University of Lviv
- Drach Y. lecturer at the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
- Dumych O. PhD, associate professor at the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
- Dyka M. PhD, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatic of Ivan Franko National University of Lviv

Dzhura N.	PhD, associate professor at the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
Fedorenko V.	doctor of biological sciences, professor, head of the Department of Genetics and Biotechnology of Ivan Franko National University of Lviv
Hachkova H.	PhD, associate professor at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv
Halushka A.	PhD, associate professor at the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv
Harasym N.	PhD, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatic of Ivan Franko National University of Lviv
Heneha A.	PhD, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatic of Ivan Franko National University of Lviv
Honcharenko V.	PhD, head of the Department of Botany, vice-dean of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University
Karpus I.	doctor of biological sciences, professor of the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
Luta M.	PhD, associate professor at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv
Mamchur Z.	PhD, associate professor, head of the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
Mamchur O.	PhD, associate professor at the Department of Plant Physiology and Ecology of Ivan Franko National University of Lviv
Manko V.	doctor of biological sciences, professor, head of the Department of Human and Animal Physiology of Ivan Franko National University of Lviv
Maslovska O	PhD, associate professor at the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv
Nazaruk K.	PhD, associate professor at the Department of Zoology of Ivan Franko National University of Lviv
Peretyatko T.	PhD, associate professor at the Department of Microbiology of Ivan Franko National University of Lviv
Sabadashka M.	PhD, associate professor at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv
Shalay Y.	associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatics of Ivan Franko National University of Lviv
Shydlovskyy I.	PhD, associate professor at the Department of Zoology of Ivan Franko National University of Lviv
Stasyk O.	PhD, associate professor at the Department of Biochemistry of Ivan Franko National University of Lviv
Tarnovska A.	PhD, associate professor at the Department of Biophysics and Bioinformatic of Ivan Franko National University of Lviv
Tsvilynyuk O.	PhD, associate professor at the Department of Ecology of Ivan Franko National University of Lviv



## СЕКЦІЇ

БІОФІЗИКА	10
БІОХІМІЯ	42
БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН	58
ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ	75
ЕКОЛОГІЯ	75
ЗООЛОГІЯ	90
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ	94
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ	101
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА	120
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН	166
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК	171

## CONTENTS

BIOPHYSICS	10
BIOCHEMISTRY	42
BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION	58
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY	75
ECOLOGY	75
ZOOLOGY	90
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY	94
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY	101
HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE	120
PLANT PHYSIOLOGY	166
INDEX OF AUTHORS	171

## БІОФІЗИКА BIOPHYSICS

**Арсенюк Б., Омелюх Б., Ільків М., Шалай Я., Бабський А.**

ЦИТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЗА ДІЇ ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ  
БФ1 ТА КОМПЛЕКСУ БФ1 З ПОЛІМЕРНИМ НАНОНОСІЯМИ У МИШЕЙ З  
ЛІМФОМОЮ НК/Лу

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: arsenuik17@gmail.com*

**Arseniuk B., Omeliukh B., Ilkiv M., Shalai Ya., Babsky A.** CYTOLOGICAL INDICATIONS OF BLOOD UNDER THE EFFECTS OF THE ANTI-TUMOR DRUG BF1 AND THE BF1 COMPLEX WITH POLYMER NANOCARRIERS IN NK/Ly MICE. The effect of thiazole derivative BF1 and its complex with polymer carriers (Th2) on survival, weight, and blood cytological parameters in mice with NK/Ly was studied. It was found that Th2 extended the lifespan of tumor-bearing mice compared to untreated animals. BF1 in both studied concentrations and Th2 increased the number of erythrocytes and decreased the number of leukocytes in the blood of tumor-bearing mice. Significant changes in the leukocyte formula under the influence of the studied compounds were observed.

Хіміотерапія найчастіше використовується під час лікування злоякісних неоплазій, проте цей підхід все ще має багато недоліків, таких як: токсичність препаратів, їх низька специфічність, неселективність дії, тощо. Тому, необхідні розробки нових протиракових сполук і покращення ефективності та зменшення токсичності сучасних препаратів.

У роботі досліджували некон'юговане похідне тіазолу N-(5- бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід (БФ1) та його комплекс з полімерним носіями на основі поліетиленгліколю (ПЕГ-ПН), що продемонстрували цитотоксичність до ракових клітинних ліній *in vitro* (Finiuk et al., 2021). Метою роботи було встановити вплив досліджуваних речовин на тривалість життя, масу та цитологічні показники крові у мишей з привитою лімфомою Немет-Келнера.

Клітини асцитної пухлини прививали мишам внутрішньочеревно, а на наступний день вводили розчин БФ1 у концентраціях 10 та 20 мг/кг ваги, ПЕГ-ПН (20 мг/кг) та комплексу полімеру з БФ1 (Th2) - 10 мг/кг. Протипухлинний препарат доксорубіцин (Докс) використовували як позитивний контроль. Введення сполук тривало 10 днів (8 днів для доксорубіцину). Розраховували середню масу тварин та тривалість життя у кожній групі. На 14-й день досліду у всіх груп відбирали кров та підраховували кількості еритроцитів, лейкоцитів та лейкоцитарну формулу. Статистичну обробку результатів здійснювали у програмі MS Excel. Для оцінки достовірності обчислювали коефіцієнт Стьюдента.

Встановлено, що у мишей, які піддавалися лікуванню усіма досліджуваними сполуками, окрім доксорубіцину, фіксували достовірне збільшення маси в порівнянні з контрольною групою. Комплекс Th2, але не некон'югована БФ1 у обох досліджуваних концентраціях, продовжував тривалість життя мишей-пухлиноносіїв у порівнянні з нелікованими тваринами з лімфомою (27 днів проти 20 днів, відповідно,  $P \leq 0,05$ ).

БФ1 (концентрація 10 та 20 мг/кг) та її комплекс з ПЕГ-ПН підвищували кількість еритроцитів в крові мишей-пухлиноносіїв в порівнянні з Докс на 27%, 23,8% та 34,9% ( $P \leq 0,001$ ). За дії речовин кількість лейкоцитів достовірно знижувалася на 52%, 52,8% та 47,2% за дії БФ1 (10 мг/кг та 20 мг/кг) та Th2 (10 мг/кг), відповідно у порівнянні з нелікованими мишами-пухлиноносіями. Усі досліджувані препарати, нівелювали ефект підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів у порівнянні з нелікованими мишами-пухлиноносіями ( $P \leq 0,001$ ). Частка малих лімфоцитів достовірно збільшувалася за впливу усіх сполук у порівнянні з нелікованими тваринами-пухлиноносіями, проте комплекс Th2 мав найбільш виражений вплив (78,4% у Докс проти 93,7% у Th2). Цікаво, що лише комплекс Th2 не призводив до моноцитозу в мишей з лімфомою NK/Ly у порівнянні з контрольною групою та ефективно нормалізував кількість моноцитів у порівнянні з Докс.

Отже, похідне тіазолу БФ1 демонструє слабшу токсичну дію, ніж відомий протипухлинний препарат доксорубіцин. Описані вище дані вказують на те, що ПЕГ-ПН покращує терапевтичний ефект БФ1.

**Гоголь О.<sup>1</sup>, Шалай Я.<sup>1</sup>, Бура М.<sup>1</sup>, Заіченко О.<sup>2</sup>**

**ОЦІНКА ГЕНОТОКСИЧНОСТІ ПЕГ-ПОЛІМЕРУ ЗА ДОПОМОГОЮ БІОТЕСТУ  
*ALLIUM***

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: oleggogol6@gmail.com

<sup>2</sup>Національний університет «Львівська політехніка»,  
кафедра органічної хімії, пл. Св. Юра, 2, 79013, м. Львів, Україна  
e-mail: zaichenk@polynet.lviv.ua

**Gogol O., Shalai Ya., Bura M. Zaichenko O.** THE ASSESSMENT OF THE PEG-POLYMER GENOTOXICITY USING THE *ALLIUM CEPA* BIOASSAY. We have found that PEG-polymer (10  $\mu\text{mol/L}$ ) did not inhibit the growth and germination of the roots of the *Allium cepa*. The acceleration of the division of meristem cells was revealed, as the mitotic index under the influence of the PEG-polymers was 138% compared to the control.

Сьогодні, особливо важливими є дослідження молекулярних механізмів впливу новосинтезованих полімерних наноносіїв для оцінки стану апарату спадковості, поділу та мінливості клітин. Аналіз джерел літератури свідчить, що полімери володіють не лише вираженою фармакологічною активністю, але й токсичністю порівняно зі звичайними мікрочастками, здатні частково проникати крізь клітинні мембрани й накопичуватися в тканинах й органах, зумовлюючи виражені в них патоморфологічні зміни. На клітинному рівні виділяють різні шляхи можливого надходження полімерів до клітини і до ядра, включаючи дифузію через мембрану та транспорт за участю комплексів. Новосинтезовані полімери можуть також взаємодіяти із молекулами ДНК під час мітозу, коли цілість ядерної мембрани порушується доти, поки не утвориться дочірні клітини (Chen, von Mikecz, 2005).

З біофізичної точки зору, дослідження особливостей впливу новосинтезованого похідного поліетиленгліколю на поділ клітин та оцінка його генотоксичності є актуальним та перспективним. Найзручнішим у цьому відношенні вважається біотест на цибулі (*Allium cepa* L.), оскільки вищі рослини займають важливий трофічний рівень в екосистемах. На кафедрі «Органічної хімії» Львівської політехніки здійснено синтез ряду біологічно толерантних ПЕГ-олігомерних носіїв та систем доставки

антимікробних та протипухлинних препаратів в орган-мішень (Рябцева, Остапчук, 2011). Метою роботи було провести дослідження росту коренів та проростання цибулин *Allium serpa*, а також здійснити ана-телофазний аналіз клітин меристеми кореня за умов впливу позитивно контрольних речовин азиду натрію, Доксорубіцину й новосинтезованого ПЕГ-полімеру.

Дослідження токсичності проводили з використанням біотесту *Allium*, описаний Fiskesjo G. Насіння *Allium* (15 на кожну точку) пророщували на досліджуваних розчинах азиду натрію (150 мкмоль/л), Доксорубіцину (1 мкмоль/л) та ПЕГ-полімеру (10 мкмоль/л) упродовж 7 діб при 22°C. Як негативний контроль використовували дистильовану воду. Розраховували ріст коренів і % пригнічення проростання насіння. Для аналізу ана-телофазних хромосомних аберацій *Allium* матеріал фіксували, як описано в методиці Fiskesjo G. Клітини аналізували на різних стадіях клітинного циклу за допомогою біокулярного мікроскопа МБС-9 з фотографічною приставкою. Хромосоми забарвлювали 1 % ацетоорсеїном впродовж 15 хв. Для встановлення цито- та генотоксичності досліджуваних сполук визначали мітотичний індекс (МІ, %).

Речовини позитивного контролю азид натрію і комерційний протипухлинний препарат Доксорубіцин достовірно інгібували ріст коренів і проростання насіння (в середньому на 75 та 59% відповідно). Отримані експериментальні дані свідчать, що 10 мкмоль/л ПЕГ-полімеру недостовірно пригнічував ріст та проростання цибулин *Allium*, тобто не продемонстрував гострої токсичності. При аналізі клітин меристеми на різних фазах клітинного циклу не виявлено негативного ефекту досліджуваної сполуки у вигляді хромосомних аберацій. У порівнянні з генотоксичним впливом позитивних речовин, ПЕГ-полімер інтенсифікував поділ клітин меристеми, оскільки МІ становив 138% порівняно з контролем.

Оскільки реакція вищих рослин та тварин на вплив новосинтезованих речовин значно відрізняється (Misik, 2014), плануємо провести додаткові дослідження з метою оцінки негативного впливу спектру концентрацій похідних ПЕГ та оцінити їх мутагенний потенціал.

**Катульська І., Тарновська А., Кульчицька А., Ней Я., Генега А.**  
ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ СТУДЕНТІВ  
В УМОВАХ ДИСТАНЦІЙНОГО НАВЧАННЯ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail: katulskairina@gmail.com*

**Katulska I., Tarnovska A., Kylchytka A., Ney Y., Heneha A.** ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL STATUS OF RESPIRATORY ORGANS OF STUDENTS IN THE CONDITIONS OF DISTANCE EDUCATION. According to the statistics of Ukraine: in 2017, diseases of the respiratory system ranked first in the structure of primary morbidity (45.23%), and second in prevalence (20.1%). According to the State Statistics Service, before the start of the quarantine, about a thousand people died every month from respiratory tract diseases, of which about 500 people died from SARS and pneumonia. The impact factor on the respiratory system was COVID-19. As of May 26, 2022, there were 5,011,433 sick people in Ukraine, of which 108,538 died. It is obvious that under such circumstances there is a need for constant monitoring of the respiratory system of the population, in particular people of working age, and analysis of factors that can affect its functional state.

Згідно статистики України: в 2017 році хвороби дихальної системи у структурі первинної захворюваності посідали перше місце (45,23%), а за поширеністю - друге (20,1%). За даними Державної служби статистики, до старту карантину щомісяця від хворіб дихальних шляхів вмирало близько тисячі осіб, з них через ГРВІ та пневмонії - близько 500 людей. Впливовим фактором на дихальну систему став COVID-19. Окрім захворювань на функціональність дихальної системи впливають низька фізична активність або її відсутність, сидячий спосіб життя, тютюнопаління та використання електронних сигарет, мала кількість часу перебування на свіжому повітрі та інші. В Україні коронавірусна інфекція Covid-19 (пневмонія нового типу) вперше була діагностована 3 березня 2020 року в Чернівцях. 13 березня 2020 року було зафіксовано перший летальний випадок внаслідок коронавірусної інфекції. На 26 травня 2022 р. в Україні налічувалося 5 011 433 хворих на Covid-19, з них 108 538 летальних випадків.

Очевидно, що при таких обставинах є потреба у постійному моніторингу дихальної системи населення, зокрема осіб працездатного віку, та аналіз факторів, які можуть впливати на її функціональний стан.

Наше дослідження базувалось на оцінці функціонального стану дихальної системи студентів в умовах дистанційного навчання. Дослідження тривало протягом кількох місяців (січень - травень 2022 р.) на базі кафедри біофізики та біоінформатики Львівського національного університету імені Івана Франка. Серед респондентів були студенти різних кафедр біологічного факультету віком від 17 до 24 років. Середній вік досліджуваних склав  $19,12 \pm 1,5$  років.

Ми проводили вимірювання за декількома методиками, серед яких: проба Штанге, проба Генчі, проба Серкіна.

Згідно з отриманими результатами всіх студентів було розподілено за трьома категоріями: здорові треновані, здорові не треновані та студенти з відхиленнями від норми.

Згідно результатів дослідження, які зроблені за допомогою проби Штанге серед 9 учасників дослідження, у восьми студентів оцінка стану "добре" та в одного "відмінно".

За результатами дослідження, проведеного за допомогою проби Генчі, серед 9 студентів, в двох студентів оцінка стану "відмінно", у шести "добре" та в одного "посередньо".

Для аналізу зовнішнього дихання студентів ми використовували пробу Серкіна. За результатами дослідження, серед 9 досліджуваних, у двох оцінка "здоровий тренований", а в семи "здоровий нетренований".

**Кульчицька А., Тарновська А., Генега А., Катувська І., Ней І.**  
**ОЦІНКА АДАПТАЦІЙНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ СИСТЕМИ КРОВОООБІГУ**  
**СТУДЕНТІВ В УМОВАХ ДИСТАНЦІЙНОГО НАВЧАННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail: anzhelika23kn@gmail.com*

**Kulchytska A., Tarnovska A., Heneha A., Katulska I., Nei Y.** ASSESSMENT OF THE ADAPTIVE CAPABILITIES OF STUDENTS CIRCULATORY SYSTEM IN DISTANCE LEARNING CONDITIONS. Today, distance learning is practiced in almost every country in the world. Along with comfort and other advantages, this has its consequences, which are associated with a sedentary lifestyle. Computer users are often stressed when they need to complete a job

within a specific time limit. Stress at work has been repeatedly associated with an increased risk of cardiovascular diseases. Indicators such as heart rate, orthostatic and clinostatic tests, etc. are used as a marker for assessing the functioning of the human cardiovascular system. Today, there is unconvincing evidence that sedentary behaviour contributes to the development of cardiovascular diseases and the risk of diabetes. Therefore, additional research and data are needed to develop health measures and recommendations.

Сьогодні дистанційне навчання практикується ледь не у кожній країні світу. Разом з комфортністю та іншими перевагами, це має свої наслідки, які пов'язані з малорухливим способом життя. Такий спосіб життя охоплює читання, використання комп'ютера, перегляд телевізора, роботу в офісі та використання мобільного телефону. Подібний, але дещо інший термін – екранний час. Це сума часу, витраченого на перегляд телевізора, монітора комп'ютера, мобільного пристрою чи іншого екрану. Експериментальні дані вказують на те, що малорухлива поведінка може бути фактором ризику захворюваності та смертності від серцево-судинних захворювань та цукрового діабету. Як маркер оцінки роботи серцево-судинної системи людини використовують такі показники як: частота серцевих скорочень (ЧСС), ортостатична та кліностатична проби, тощо.

На сьогоднішній день є докази того, що малорухлива поведінка сприяє розвитку серцево-судинних захворювань і ризику виникнення цукрового діабету, проте ці дані є недостатньо переконливі. Тому, для розробки заходів та рекомендацій у сфері охорони здоров'я, необхідні додаткові дослідження.

Метою роботи було оцінити адаптаційні можливості системи кровообігу студентів в умовах дистанційного навчання. Для досягнення мети було поставлено такі завдання: оцінити функціональний стан вегетативної регуляції системи кровообігу студентів біологічного факультету, застосувавши ортостатичну та кліностатичну проби та дослідити працездатність серця і визначити допустимий рівень фізичного навантаження для студентів біологічного факультету, використавши пробу Руф'є.

Згідно з результатами ортостатичної проби, у 77,7% студентів була слабка реакція, в інших 22,3% студентів була сильна реакція. Аналіз результатів кліностатичної проби встановив, що у відсотковому співвідношенні переважає група студентів із підвищеним тонусом, яка складає 55,5% від загальної кількості досліджених, проти 11,1% та 33,3% студентів із високим та нормальним тонусом парасимпатичної частини вегетативної нервової системи, відповідно.

Було досліджено працездатність серця та визначено допустимий рівень фізичного навантаження для студентів біологічного факультету за пробою Руф'є. Встановлено, що серед студентів даної групи є 22,2% із слабою оцінкою, 33,3% із задовільною оцінкою, 22,2% з середньою оцінкою, 11,1% з доброю оцінкою та 11,1% із відмінною оцінкою реакції за індексом Руф'є.

**Кухтій Ю., Гарасим Н., Зинь А.**

**СОРБЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ САМЦІВ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ  
БЛОКАТОРІВ ГІСТАМІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: rudnykulia@gmail.com*

**Kuhtii J., Harasym N., Zyn A. ABSORPTION CAPACITY OF ERYTHROCYTES OF MALE RATS UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE RECEPTOR BLOCKERS.** Addition of histamine to erythrocytes increases the sorption capacity of erythrocytes. Desloratadine, ranitidine and betahistine in concentrations of 0.1 and 1  $\mu$ M

reduce the sorption capacity of erythrocytes. The combined effect of desloratadine, ranitidine, betahistine with histamine leads to a decrease in the sorption capacity of erythrocytes compared to the independent effect of desloratadine, ranitidine and betahistine, as well as the independent effect of histamine.

Гістамін є одним із ендогенних чинників (медіаторів), який бере участь у регуляції багатьох функцій організму, а також відіграє важливу роль у розвитку ряду захворювань. При різних патологічних процесах, а також при надходженні в організм деяких хімічних речовин кількість вільного гістаміну збільшується. Відомо, що гістамін діє на клітини через специфічні рецептори (H1, H2, H3, H4), які присутні в плазматичній мембрані клітин (Buddenkotte, 2010). Проте, до тепер невідомо, чи є такі рецептори в плазматичній мембрані еритроцитів, чи усі ці типи рецепторів наявні на мембрані червоних кров'яних тілець; з якою частотою вони там поширені і, найголовніше, яку функцію виконують ці рецептори, тобто, які процеси регулюють в еритроциті.

Ідентифікація в мембранах еритроцитів рецепторів до гістаміну та дослідження їхньої функції можливе шляхом використання селективних блокаторів гістамінорецепторів. До еритроцитів додавали гістамін (5,4 мкМ). Для вивчення наявності на плазматичній мембрані еритроцитів H4 рецепторів до гістаміну, застосовували блокатори рецепторів (дезлоратадин – до H1 рецептора, ранітидин – до H2 рецептора, бетагістин – до H3 рецептора; ДРБ). Для цього до еритроцитів додавали блокатори таким чином, щоб кінцева концентрація кожного становила 0,1; 1; 10 мкМ. До інших зразків після інкубації з блокаторами додавали гістамін у концентрації 5,4 мкМ. Проводили інкубацію 5 хв. і відбирали зразки для аналізу сорбційної здатності еритроцитів.

Інкубація еритроцитів шурів з гістаміном зумовлює підвищення сорбційної здатності цих клітин. Такий ефект є позитивним, оскільки відомо, що еритроцити сорбують на своїй поверхні різні шкідливі речовини, знижуючи інтоксикацію організму. За впливу ДРБ в концентраціях 0,1 та 1 мкМ знижується сорбційна здатність еритроцитів на 57%. Нами виявлено, що 10 мкМ ДРБ не змінює сорбційної здатності еритроцитів порівняно з інтактними клітинами. Додавання до еритроцитів трьох різних хімічних сполук очікувано знижує сорбційну здатність, оскільки містять у своїй структурі катіонні групи. Додавання до еритроцитів гістаміну на тлі дії ДРБ у концентрації 0,1 та 1 мкМ знижує сорбційну здатність еритроцитів порівняно з інтактними зразками, а також із зразками клітин, до яких додавали тільки гістамін, проте не чинить достовірних змін порівняно з еритроцитами, до яких додавали лише суміш ДРБ. Це свідчить, що зміна сорбційної здатності за поєднаного впливу ДРБ у концентраціях 0,1 і 1 мкМ та гістаміну є спричинена саме блокаторами гістамінорецепторів.

Заблокувавши спочатку H1, H2, H3 рецептори до гістаміну на еритроцитах дезлоратадином, ранітидином, бетагістином у концентраціях 10 мкМ, і додавши гістамін, знижується сорбційна здатність еритроцитів на 15% порівняно з групою клітин, до яких додавали лише суміш ДРБ у зазначеній концентрації. Зниження сорбційної здатності клітин крові проходить також і порівняно з дією гістаміну та з інтактними клітинами. Отже, поєднана дія ДРБ у концентрації 10 мкМ з гістаміном спричиняє негативні зміни сорбційної здатності еритроцитів. Враховуючи результати дослідження, можна припустити, що на мембрані еритроцитів наявний H4 рецептор до гістаміну, який бере участь у регулюванні сорбційної здатності еритроцитів.

**Музыка Я., Грицишин Д., Тарновська А.**

**БИОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ СПЕРМОГРАМ ЧОЛОВІКІВ СЕРЕДНЬОЇ ВІКОВОЇ ГРУПИ (30-39 РОКІВ) В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЯХ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: ilovezno@ukr.net,*

*e-mail: yanayana08102000@gmail.com*

**Muzyka Y., Hrytsyshyn D., Tarnovska A.** BIOMETRIC ANALYSIS OF SPERMOGRAMS OF MIDDLE-AGED MEN (30-39 YEARS OLD) IN NORMAL AND WITH PATHOLOGIES. Almost 15% of families on the planet face fertilization problems. Compared to the progress made in the treatment of female infertility, the treatment of male infertility remains less effective. In recent years, the number of infertile men has been steadily increasing. In order to protect the reproductive system of the male body from negative factors that contribute to a decrease in male fertility, it is still relevant to model the possible causes of a decrease in male fertility.

Майже 15% сімей на планеті зустрічаються із проблемами запліднення. Порівняно з прогресом, досягнутим у лікуванні жіночого непліддя, лікування чоловічого непліддя залишається не таким ефективним. Останніми роками кількість неплідних чоловіків неухильно зростає. На сьогодні тенденція до зростання питомої ваги чоловічого фактура непліддя тільки збільшується. Близько 40% (20-60%) усіх випадків займає ідіопатичне непліддя. Середня кількість сперматозоїдів в еякуляті здорових чоловіків зменшилася вдвічі, а середній об'єм еякуляту зменшився на третину за останні 60 років. Зважаючи на збільшену статистику непліддя чоловіків розвинених країн, можна зробити висновок, що на чоловічу фертильність впливають медико-соціальні, психологічні та екологічні чинники.

В Україні збільшення непліддя зафіксовано у промислово-металургійних областях. Порушення сперматогенезу є однією з основних причин патологій фертильності. Внаслідок антропогенної діяльності в організм людини можуть потрапляти хімічні поллютанти, хлордан, токсиканти, пестициди, діоксин та інші речовини, що можуть негативно впливати на чоловічу фертильність. Згідно з статистикою чоловіки, що працюють на заводах, де виготовляють свинець, частіше хворіють на тератозооспермію та оліготератозооспермію.

Мета роботи полягала у біометричному аналізі спермограм чоловіків середньої вікової групи (30-39 років) при нормозооспермії, тератозооспермії, астенозооспермії, азооспермії та олігоастенотератозооспермії.

Завданням дослідження було визначити взаємозв'язок між причинами виникнення чоловічого непліддя і наслідками, які проявляються зміною якісних та кількісних показників еякуляту і репродуктивної системи в цілому, а також скласти порівняльну характеристику захворювання тератозооспермії, астенозооспермії, азооспермії та олігоастенотетатозооспермії відповідно до показників норми в чоловіків середньої вікової групи (30-39 років) і з'ясувати основні показники відхилень даних спермограм.

Результати спермограм отримані при дослідженнях пацієнтів в клініці репродуктивної медицини «Альтернатива клініка». Загалом було обстежено 47 чоловіків віком від 30 до 39 років (середня вікова група). З 47 чоловіків середньої вікової групи у п'ятнадцяти спермограми відповідали – тератозооспермії, у 12 – нормозооспермії, у 12 – олігоастенотератозооспермії, 5 – астенозооспермії, 3 –



азооспермії. В якості контролю були спермограми пацієнтів із нормозооспермією. Спермограми оцінювали за наступними показниками.

Перший критерій – це кількість еякуляту, значення якого в нормі складає 2-5 мл. Кількість еякуляту у чоловіків становить 3,7 мл, проте під час ускладнень супутніх захворювань, деформації сім'яних міхурців і сім'явивідних шляхів, об'єм еякуляту може зменшуватись, що зумовлює патологію - андрогенну недостатність.

Наступний показник – кількість сперматозоїдів в 1 мл еякуляту. Завдяки цьому критерію, було визначено, що у спермограмах чоловіків, хворих на тератозооспермію, астенозооспермію та олігоастенотератозооспермію кількість сперматозоїдів в 1 мл сім'яної рідини суттєво менша від норми, що свідчить про зниження фертильності чоловіків. У пацієнтів з азооспермією кількість сперматозоїдів майже рівна 0, що говорить про нездатність запліднення яйцеклітини та відсутність функцій ячочок.

Згідно результатів спермограми при тератозооспермії та олігоастенотератозооспермії в чоловіків середньої вікової групи загальна кількість сперматозоїдів менша за норму, а при азооспермії – близька до 0%. При нормозооспермії загальна кількість спермій в еякуляті сягає більше 45 мільйонів. У хворих з оліго- та астенозооспермією при еяколяції кожні 4–6 годин проявлялось відносне збільшення кількості прогресивно-рухомих сперматозоїдів. Виявлено, що при зменшенні кількості сперматозоїдів, збільшується кількість морфологічно дегенеративних спермій у спермограмах чоловіків середньої вікової групи (81% при тератозооспермії, 83% при олігоастенотератозооспермії та 65% при нормозооспермії, 68% при астенозооспермії та 65% при нормозооспермії).

При азооспермії показники близькі 0% через відсутність сперматозоїдів в еякуляті. Ймовірно, при цих патологіях відбувається збільшення кількості аномальних форм сперматозоїдів, які є вищі, ніж норма. Нами показано, що при досліджуваних захворюваннях в чоловіків середньої вікової групи індекс Фарріса є суттєво нижчий за норму Це вказує на малі шанси запліднення яйцеклітини. При захворюванні на олігоастенотератозооспермію, здатність до запліднення яйцеклітини є найнижчою. З'ясовано, що у спермограмах чоловіків хворих на тератозооспермію відсоток морфологічно нормальних сперматозоїдів знижується, а натомість відсоток морфологічно дегенеративних сперматозоїдів зростає порівняно із контролем.

**Ней Я., Катувська І., Кульчицька А., Генега А., Тарновська А.**  
**ОЦІНКА АНТРОПОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СТУДЕНТІВ В УМОВАХ**  
**ДИСТАНЦІЙНОГО НАВЧАННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail: yarochka.ney@gmail.com*

**Nei Y., Katulska I., Kulchytska A., Heneha A., Tarnovska A.** ASSESSMENT OF ANTHROPOMETRIC PARAMETERS OF STUDENTS IN DISTANCE LEARNING. Physical development is one of the integrative indicators of health, biological maturity of all body systems. Assessment of physical development of students is determined by methods of external examination and anthropometry by the degree of development of the main tissues of the body, the shape and size of the body, its individual parts and functions. Anthropometric standards of physical development are determined by calculating the average values of anthropometric data obtained during examination of people of the same sex, height and other indicators.

Фізичний розвиток є одним з інтегративних показників стану здоров'я, біологічної зрілості всіх систем організму.

Фізичний розвиток студентів визначили методами зовнішнього огляду та антропометрії за ступенем розвитку основних тканин організму, форм і розмірів тіла, його окремих частин та функцій організму. Антропометричні стандарти фізичного розвитку оцінювали за допомогою середніх величин антропометричних даних, отриманих при обстеженні людей, однакових за статтю, зростом та іншими показниками. Метою нашої роботи було визначити оцінку антропометричних показників студентів в умовах дистанційного навчання.

Для отримання об'єктивних даних про фізичний стан людини в умовах дистанційного навчання використали антропометричні показники, а саме ПМТ (показник міцності будови тіла), ІМТ (індекс Кветеллета), ступінь розвитку мускулатури плеча та м'язовий індекс.

Аналізуючи отримані результати можемо зробити висновки, що дистанційне навчання істотно не вплинуло на зміну маси тіла студентів, не спостерігався надмірний набір ваги чи її зменшення (індекс маси тіла). Оцінка щодо міцності будови тіла та розрахунку індексу маси тіла, серед студентів залишився в межах норми. Аналіз розвитку мускулатури плеча та м'язового індексу засвідчив, що лише у двох студентів із десяти ці показники були в межах норми.

**Рисенко Г.<sup>1</sup>, Фінюк Н.<sup>1,2</sup>, Юшин І.<sup>3</sup>, Генега А.<sup>1</sup>,  
Лесик Р.<sup>3</sup>, Стойка Р.<sup>1,2,3</sup>**

**АНТИНЕОПЛАСТИЧНА ДІЯ НОВИХ 5-ЕН-4-ТІАЗОЛІДИНОНІВ З  
ПІРАЗОЛІЛІНОВИМИ ФРАГМЕНТАМИ У МОЛЕКУЛАХ**

<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  
e-mail: oopsagainnan@gmail.com

**Rysenko H., Finiuk N., Yushyn I., Heneha A., Lesyk R., Stoika R.,**  
ANTINEOPLASTIC ACTION OF NEW 5-ENE-4-THIAZOLIDINONES WITH  
PYRAZOLYL LINE MOIETIES IN MOLECULE. In this work, the antineoplastic action of  
12 new 4-thiazolidinone derivatives was estimated towards tumor cells, human  
keratinocytes, and isolated lymphocytes from the blood of a clinically healthy donor. Les-  
6346 has a more pronounced antiproliferative activity towards the tested tumor cells *in vitro*  
with IC<sub>50</sub> in the range of 0.97 - 57.4 μM. Leukemia cells showed high sensitivity to new 5-  
ene pyrazolyl substituted thiazolidinone derivatives treatment with IC<sub>50</sub> in the range of 0.62-  
67.2 μM. The investigated pyrazolyl substituted 5-ene-thiazolidinones were non-toxic for  
normal human keratinocytes of HaCaT line as well as for normal isolated lymphocytes. The  
compounds Les-6346, Les-6534, Les-6352, Les-6468, Les-6454, Les-6533, Les-6511, Les-  
6492, and Les-6490 possessed a selective effect (SI>3) on Jurkat cells, Les-6346 – on U251  
cells, Les-6454 – on HCT116 cells.

Онкологічні патології посідають перше місце серед причин смертності у світі. В зв'язку з цим відбувається інтенсивний пошук нових ефективних протипухлинних препаратів. Посилена увага дослідників сконцентрована на вивченні біологічних

властивостей тiazолу та його похідних, а також бігетероциклічних систем із тiazолідоновим фрагментом як потенційних антимікробних та протипухлинних засобів.

Метою роботи було дослідити вплив *in vitro* нових 5-ен-4-тіазолідинонів з піразоліліновими фрагментами у молекулах на життєдіяльність пухлинних і нормальних клітин ссавців. Методи дослідження: ведення культури клітин *in vitro*, виділення лімфоцитів із крові клінічно-здорового донора (відповідно до протоколу № 2 від 07.10.2020 Комісії біоетичної експертизи ІБК НАН України), МТТ тест, забарвлення клітин трипановим синім, статистичний аналіз даних. Для вивчення селективності досліджуваних сполук індекс селективності (SI) розраховували з показника цитотоксичності  $IC_{50}$  сполуки щодо нормальних клітин, поділеного на значення  $IC_{50}$  сполуки щодо пухлинних клітин. Сполуки класифікували як селективні, якщо значення SI було  $>3$  і неселективні, якщо значення SI було  $<3$ .

Досліджено цитотоксичну дію *in vitro* 12 нових 5-ен-4-тіазолідинонів з піразоліліновими фрагментами у молекулах на пухлинні і нормальні клітини. Виявлено, що речовина Les-6346 проявляє виражену антипроліферативну активність *in vitro* щодо пухлинних клітин різного тканинного генезу: MCF-7, U251, Skov3, HCT116, Jurkat. Показник цитотоксичності ( $IC_{50}$ ) Les-6346 був в межах 0,97-57,4 мкМ для досліджуваних пухлинних клітин. Лейкозні клітини були чутливими до дії нових 5-ен піразоліл заміщених похідних тіазолідинону з  $IC_{50}$  в межах 0,62-67,2 мкМ. Досліджувані 5-ен-4-тіазолідинонів з піразоліліновими фрагментами у молекулах були нетоксичними для нормальних кератиноцитів людини лінії HaCaT, а також для ізольованих лімфоцитів клінічно-здорового донора. Сполуки Les-6346, Les-6534, Les-6352, Les-6468, Les-6454, Les-6533, Les-6511, Les-6492, Les-6490 проявили селективну дію щодо клітин Jurkat Т-лейкозу людини, Les-6346 – щодо клітин U251 гліобластоми людини, Les-6454 – щодо клітин HCT116 колоректальної карциноми людини.

**Хміль І., Гарасим Н., Боднарчук Н.**

**ЗМІНА ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ САМЦІВ ЩУРІВ  
ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ ТА РАНІТИДИНУ**

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

**Khmil I., Harasym N., Bodnarchuk N.** CHANGES IN CERTAIN BLOOD INDICATIONS OF MALE RATS UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE AND RANITIDINE. The influence of histamine and ranitidine, as a H<sub>2</sub>-receptor blocker, on the physical and chemical parameters of the blood of rats was investigated. Ranitidine at a concentration of 10 μM increases the hematocrit in the blood. Addition of ranitidine at a concentration of 0.1 μM and histamine increases erythrocyte aggregation. Incubation of blood with ranitidine at a concentration of 10 μM, as well as ranitidine at a concentration of 0.1 μM in combination with histamine leads to an increase in the coefficient of platelet aggregation.

Гістамін утворюється в процесі декарбоксилювання гістидину. Гістамін вивільняється з клітин при анафілактичних і алергічних реакціях. H<sub>2</sub> гістаміновий рецептор – це мембранний білок, який пов'язаний з G-білком. H<sub>2</sub> рецептори посилюють секрецію шлункових залоз, беруть участь у регуляції тонуусу гладких м'язів матки, кишечника, судин. Відомо, що гістамін знаходить в тканинних

базофілах, базофілах крові, еозинофілах, тромбоцитах (Бішко, 2012). На сьогодні відсутня інформація щодо ендогенного гістаміну в еритроцитах і рецепторів до цього аміну на цих клітинах. Для вивчення впливу гістаміну на еритроцити, до крові додавали гістамін у концентрації 5,4 мкМ. Для вивчення H<sub>2</sub> рецепторів на еритроцитах застосовували ранітидин (як блокатор H<sub>2</sub> рецепторів). Для цього до крові додавали розчини ранітидину (0,1; 1; 10 мкМ) і інкубували 5 хв. Також було досліджено поєднану дію гістаміну і ранітидину. Тому, до зразків крові додавали ранітидин (відповідно 0,1; 1; 10 мкМ) і після інкубації добавляли гістамін (5,4 мкМ). У зразках визначали гематокрит, наявність в крові еритроцитарних агрегатів, коефіцієнт агрегації тромбоцитів. Встановлено, що додавання до крові гістаміну не зумовлює зміни гематокриту. За додавання до крові шурів ранітидину відбувається підвищення гематокриту на 101% за концентрації препарату 10 мкМ, що пов'язано із змінами реологічних властивостей крові (Козловський, 2015). Додавання до крові ранітидину з наступним додаванням до зразка гістаміну не спричиняє достовірних змін показника гематокриту. Встановлено, що незалежна дія гістаміну та ранітидину не спричинили змін еритроцитарних агрегатів у крові шурів. Додавши до крові і ранітидин (у концентрації 0,1 мкМ), і гістамін, встановлено підвищення відсотка еритроцитарних агрегатів у крові шурів порівняно з контролем на 62% та порівняно із зразками, до яких додавали ранітидин у концентрації 0,1 мкМ. Досліджено, що коефіцієнт агрегації тромбоцитів підвищується на 34% у крові шурів при додаванні гістаміну. Додаючи до крові ранітидин, встановлено посилення коефіцієнта агрегації тромбоцитів на 149% за впливу препарату у концентрації 10 мкМ. Таке підвищення показника виявлено і за дії ранітидину у концентрації 0,1 мкМ, хоча і не підтвердилася достовірністю. За цієї концентрації (10 мкМ) відбувається і підвищення показника гематокриту. Отже, максимально висока досліджувана концентрація ранітидину змінює показники крові шурів. В інструкції до використання препарату зазначено побічний ефект оборотну тромбоцитопенію. За додавання до крові ранітидину і гістаміну, встановлено зростання коефіцієнта агрегації тромбоцитів за дії препарату у концентрації 0,1 мкМ (на 87%) порівняно з контролем. Проте ця зміна є такою ж, як і за незалежного впливу ранітидину у концентрації 0,1 мкМ. Поєднане введення до крові ранітидину у концентрації 10 мкМ та гістаміну спричиняє зниження коефіцієнта агрегації тромбоцитів порівняно з контролем (на 47%), з незалежним впливом гістаміну (на 61%), так і з незалежною дією ранітидину у концентрації 10 мкМ (на 79%). Ці результати є важливими, оскільки вказують на залучення H<sub>2</sub> рецептора на тромбоцитах до процесу агрегації цих клітин. Необхідно відмітити, що гістамінорецептори на тромбоцитах є не описаними. Це посилює потребу подальшого проведення досліджень у цьому руслі

## БІОХІМІЯ BIOCHEMISTRY

**Андрейко В., Люта М., Сибірна Н.**

ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ НІТРАТИВНОГО СТРЕСУ В ЕРИТРОЦИТАХ ЗА ВВЕДЕННЯ ЙОГУРТУ, ЗБАГАЧЕНОГО БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ ПЛОДІВ *SAMBUCUS NIGRA L.*, ЩУРАМ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ  
*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail: vika.malenika@gmail.com*

**Andreiko V., Liuta M., Sybirna N.** HEMATOLOGICAL INDICATORS AND MOLECULAR MARKERS OF NITRATIVE STRESS IN ERYTHROCYTES UNDER ADMINISTRATION OF YOGURT ENRICHED WITH BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF FRUITS *SAMBUCUS NIGRA L.* TO RATS WITH METABOLIC SYNDROME. Elderberry may be beneficial for balancing blood sugar in diabetes and preventing complications such as osteoporosis and heart disease. However, the benefits seen in studies are mainly on animals, and there is no conclusive evidence for elderberry's safety or effectiveness in humans.

Метаболічний синдром (МС) – це сукупність патофізіологічних розладів, таких як вісцеральне ожиріння, інсулінорезистентність, підвищення артеріального тиску, дисліпідемія. Експерти ВООЗ характеризують метаболічний синдром як пандемію XXI століття. Бузина чорна (*Sambucus nigra L.*) – квітуча рослина родини *Adoxaceae*, плоди якої характеризуються високим вмістом поліфенолів, монотерпенів, пальмітинової кислоти, антоціанів тощо. Багато досліджень демонструють антиоксидантні, антимікробні, протівірусні, гіпоглікемічні властивості екстрактів плодів бузини (Najar, 2020, Gound, 2020, Mlynarczyk, 2018).

Мета роботи: дослідити вплив йогурту, збагаченого біологічно активними речовинами плодів бузини чорної на гематологічні показники та маркери нітративного стресу еритроцитів за фруктозо-індукованого метаболічного синдрому у щурів.

Експерименти проводили на щурах-самцях масою 250-300 г з дотриманням етичних принципів проведення експериментів на тваринах. Метаболічний синдром індукували введенням 10%-го розчину фруктози щоденно впродовж 10 тижнів. Через 6 тижнів тваринам вводили *per os* йогурт з плодами *Sambucus nigra* в дозі 5 мл/кг впродовж 4 тижнів. Склад йогурту: 80% – плоди бузини та 20% – молоко, зброжене *Lactobacillus gasseri*. Щурів декапітували під ефірним наркозом. Збір крові здійснювали з додаванням гепарину (кінцеве розведення гепарин: цільна кров = 1:100).

Встановлено, що введення йогурту щурам з МС не мало вираженої гіпоглікемічної дії, але викликало підвищення концентрації гемоглобіну та кількості ретикулоцитів у цільній крові, порівняно з тваринами, які не споживали йогурт. Змін у загальній кількості еритроцитів та лейкоцитів за досліджуваних умов не виявлено. Сумарна активність NO-синтази в еритроцитах за МС порівняно з контролем не змінювалася, проте активність ендотеліальної NO-синтази знижувалася, а індуцибельної – зростала. Також відбувалося зростання вмісту нітритів у плазмі та еритроцитах щурів з МС, порівняно з контролем. Введення йогурту викликало

нормалізацію вмісту стабільних метаболітів NO, однак не викликало змін у сумарній активності та активності окремих ізоформ NO-синтази в еритроцитах тварин з МС.

**Бандура Ю., Герцик Д., Канюка О., Сибірна Н.**

**ЕНЗИМАТИЧНА ЛАНКА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ  
ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ I-го ТИПУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: yurabandura98@gmail.com*

**Bandura Y., Hertsyk D., Kaniuka O., Sybirna N. ENZYMATIC LINK OF THE RAT PANCREATIC ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN TYPE 1 DIABETES MELLITUS.** Type 1 diabetes mellitus is a multifactorial autoimmune disease characterized by a complete absence of the hormone insulin. Extremely reactive – reactive oxygen species are important in the pathogenesis of endogenous intoxication. The aim of the study was to study the effect of diabetes mellitus on changes in indicators that characterize oxidative stress in pancreatic lysates.

Цукровий діабет I-го типу – це багатофакторне автоімунне захворювання, яке характеризується деструкцією інсулінопродукуючих β-клітин підшлункової залози. Були проведені численні дослідження для з'ясування механізму розвитку функціональних порушень у β-клітинах за цукрового діабету. Основні фактори, що викликають ці зміни – це гіперглікемія, гіперліпідемія та запалення. З безлічі запропонованих механізмів було показано, що стрес ендоплазматичного ретикулуму, мітохондріальна дисфункція та оксидативний стрес відіграють центральну роль у виникненні дисфункції β-клітин. Останніми роками стає все очевидніше, що ці 3 чинники тісно взаємопов'язані і значною мірою посилюють один одного. Було показано низку активності ферментів антиоксидативного захисту у β-клітинах, що робить їх сприйнятливими до оксидативного стресу. В свою чергу, оксидативний стрес супроводжується окисною модифікацією біомолекул, зокрема, ліпідів, білків та ДНК. За фізіологічних умов утворені активовані кисневі метаболіти знешкоджуються різними неензиматичними та ензиматичними компонентами системи антиоксидантного захисту. Саме з цієї причини важливими є дослідження стан системи антиоксидантного захисту.

Метою роботи було дослідити зміни показників, що характеризують ензиматичну ланку антиоксидантної системи у гомогенатах підшлункової залози. Після індукування цукрового діабету спостерігали зниження активності каталази у 2,6 рази, глутатіонредуктази в 4,3 рази, незначне зниження у глутатіонпероксидази в 1,13 рази порівняно та підвищення активності супероксиддисмутази в 1,8 рази, порівняно з контролем.

Згідно з отриманими даними, за умов експериментального цукрового діабету спостерігається погіршення функціонування усіх основних ферментів ензиматичної ланки антиоксидантного захисту. Найбільш вираженими зміни були активності каталази та глутатіонредуктази. Результати можна пояснити надпродукцією активних форм кисню, що призводить до окисної модифікації ферментів і, відповідно, до зниження активності каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та компенсаторного підвищення активності супероксиддисмутази. Також, можна припустити, що за умов цукрового діабету глутатіонредуктаза не забезпечує утворення достатньої кількості відновленого глутатіону, що з часом може призвести до виснаження глутатіонової системи та посилення оксидативного стресу.

**Бугрин М., Гачкова Г., Сибірна Н.**

**ГІПОЛІПІДЕМІЧНА ДІЯ БЕЗАЛКАЛОЇДНОЇ ФРАКЦІЇ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА  
ЛІКАРСЬКОГО ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: buhrynmartina@ukr.net*

**Buhryn M., Hachkova H., Sybirna N.** HIPOLIPIDEMIC EFFECT OF THE NON-ALKALOID FRACTION OF *GALEGA OFFICINALIS* EXTRACT UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. The effect of the non-alkaloid fraction of *Galega officinalis* extract on the content of lipid metabolism indicators in the blood of rats under conditions of experimentally induced diabetes was studied. The hypolipidemic effect of the studied extract on the content of indicators of lipid metabolism in the blood of rats with diabetes mellitus is shown.

Характерними ознаками дисліпідемії у хворих на цукровий діабет є підвищення вмісту триацилгліцеролів (ТАГ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) та зниження вмісту ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ). Порушення ліпідного обміну сприяє розвитку атеросклерозу та пов'язаних з ним ускладнень цукрового діабету. Серед гіполіпідемічних засобів значний інтерес становлять препарати рослинного походження, які характеризуються незначними побічними діями та комплексним впливом на патогенез цього захворювання. Козлятник лікарський здавна використовується для лікування цукрового діабету. Ця лікарська рослина, є поліфункціональною, зокрема, виявляє гіпоглікемічний, антиоксидантний, мембраностабілізуючий, антимікробний, ефекти.

Метою роботи було дослідити гіполіпідемічну дію безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського (БФЕКЛ) визначивши вміст холестеролу, триацилгліцеролів (ТАГ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) та ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) у плазмі крові та індекси ліпідного обміну за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД), а також порівняти ефективність гіполіпідемічної дії БФЕКЛ та офіціального фітопрепарату "Арфазетин".

У роботі використовували 4 групи тварин: перша – контроль; друга – контрольні тварини, яким впродовж 14 днів *per os* вводили БФЕКЛ у дозі 0,6 г/кг маси тіла; третя – тварини з ЕЦД; четверта – тварини з ЕЦД, яким вводили досліджуваний екстракт у вищезазначеній дозі.

На моделі стрептозотоцин-індукованого діабету доведено, що БФЕКЛ коригує вміст антиатерогенних фракцій ліпідів – ЛПВЩ на рівні препарату порівняння – фітозбору "Арфазетин", проте поступається йому за ефективністю коригуючого впливу на вміст атерогенних ліпідів – холестеролу, ТАГ, ЛПНЩ. З літератури відомо, що порівняно з показниками ліпідограми, атерогенні індекси плазми (коефіцієнт атерогенності та індекси ризику Кастеллі I і II) краще відображають порушення ліпідного обміну і є інформативнішими показниками прогнозування серцево-судинних ускладнень. Двотижневе введення БФЕКЛ та фітопрепарату "Арфазетин" тваринам з ЕЦД зумовлювало зменшення проявів дисліпідемії та сприяло стабілізації індексів атерогенезу.

Виражений, порівняно з БФЕКЛ коригуючий вплив багатокомпонентного збору "Арфазетин" на показники ліпідного обміну може бути обумовлений наявністю у його складі ширшого спектру біологічно активних речовин з антиатерогенною дією.

**Гіжецька О., Єфіменко Н., Кармаш О., Люта М., Сибірна Н.**  
ВПЛИВ ФОТОБІОМОДУЛЯЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ СИНІМ СВІТЛОМ НА АКТИВНІСТЬ  
ЕНЗИМІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО  
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

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

**Hizhetska O., Yefimenko N., Karmash O., Liuta M., Sybirna N.** THE INFLUENCE OF BLUE LIGHT PHOTOBIO-MODULATION THERAPY ON ACTIVITY OF ANTIOXIDANT PROTECTION ENZYMES UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. In the case of blue light photobiomodulation therapy in experimental diabetes, an increase in the activity of superoxide dismutase and catalase is observed in erythrocytes and blood plasma, which contributes to the mobilization of antioxidant and antiradical protection mechanisms.

За цукрового діабету (ЦД) відбувається порушення рівноваги між системами генерації активних форм Оксигену і системами їхнього знешкодження. Фотобіомодуляційна терапія (ФБМТ) може бути ефективним терапевтичним підходом для зменшення рівня маркерів оксидативного стресу. Біохімічні та молекулярні механізми впливу світла видимої ділянки спектру базуються на різноманітних первинних фотохімічних реакціях в організмі.

Мета роботи: дослідити вплив ФБМТ синім світлом на активність каталази та супероксиддисмутази (СОД) у еритроцитах та плазмі крові щурів за ЦД.

Тварини були поділені на 4 групи: I – контроль; II – К+ ФБМТ; III – ЦД; IV – ЦД+ФБМТ. ЦД індукували внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (6 мг/100 г маси). Тварин II-ї і IV-ї груп було опромінено за допомогою матриці зі світлодіодами із загальною потужністю 150 мВт та довжиною хвилі 470 нм по 5 хв щоденно, впродовж 10 днів. Усі маніпуляції з тваринами проводили із дотриманням норм біоетики. Активність СОД (КФ 1.15.1.11) було досліджено за методом Чеварі, а каталази (КФ 1.11.1.6) – за методом Королюка. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel.

Виявлено зниження активності СОД і каталази у еритроцитах III-ї групи тварин порівняно з показниками I-ї групи на 29% та 32,4%, і у плазмі – на 59% та 53,9%, відповідно. У II-й групі не спостерігали суттєвих змін активності СОД, але активність каталази зростала на 41% у плазмі порівняно з показниками I-ї групи. У IV-й групі відмічено зростання активності СОД і каталази у еритроцитах (на 39% та 78%, відповідно) та у плазмі крові (на 50% та на 35,5%, відповідно) порівняно з показниками III-ї групи.

Застосування ФБМТ за ЦД викликає зростання активності СОД та каталази, що сприяє мобілізації антиоксидантних та антирадикальних механізмів захисту.

**Капітанець С., Нагалєвська М., Сибірна Н.**  
ЗМІНИ АГРЕГАЦІЇ КЛІТИН КРОВІ *IN VITRO* ЗА ДІЇ РІПАКОВОГО МЕДУ  
ЗБАГАЧЕНОГО ЛІОФІЛІЗОВАНИМ ЕКСТРАКТОМ КВІТІВ БУРКУНА БІЛОГО  
(*MELLILOTUS ALBUS* MEDIC.)

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

**Kapitanets S., Nagalievskaya M., Sybirna N.** CHANGES IN BLOOD CELL AGGREGATION *IN VITRO* UNDER THE EFFECTS OF RAPE HONEY ENRICHED WITH LYOPHILIZED EXTRACT OF FLOWERS OF *MELLILOTUS ALBUS* *Mellilotus*



*albus* contains coumarins. These substances are used as an anticoagulant to suppress the formation of blood clots, and are used in the treatment of venous thrombosis and pulmonary arterial embolism. Therefore, we investigate the change in indicators of aggregation of platelets under the influence of biologically active substances in the composition of rape honey and the same honey enriched with lyophilized extract of *Mellilotus albus* flowers.

Мед ні з чим не зрівняний за харчовими та цілющими властивостями продукт, що здатний модулювати фізико-хімічний стан мембран клітин. Відомо, що мед позитивно впливає на людський організм завдяки високому вмісту біологічно активних речовин (моносахариди, вітаміни, ферменти, амінокислоти, поліфенольні сполуки). Властивості меду строго залежать від його ботанічного походження, що обумовлено біологічно активними компонентами рослини (переважно це вторинні метаболіти), які надходять до складу меду, виготовленого бджолами з нектару.

Метою роботи було дослідити зміни показників агрегації тромбоцитів за дії біологічно активних речовин у складі ріпакового меду та цього ж меду, збагаченого ліофілізованим екстрактом квітів буркуна білого (*Mellilotus albus* Medic.).

Експерименти проводились із використанням тримісячних щурів вагою 150-250 г, яких утримували в чистих клітках, із дотриманням етичних принципів проведення експериментів на тваринах. Для забору крові щурів знеболювали методом глибокої анестезії та проводили декапітацію. Вивчення агрегаційної здатності тромбоцитів здійснювали з використанням автоматичного аналізатора агрегації. При дослідженні агрегаційної здатності клітин крові були використані такі коригуючі фактори: кумарин, ріпаковий мед, ріпаковий мед із кумарином та мед, що збагачений ліофілізованим екстрактом квітів. Для обробки даних використовувалось програмне забезпечення AGGR v2.20, що дозволяє представляти результати, як: ступінь та швидкість агрегації, максимальний розмір агрегатів і відсоток пригнічення агрегації.

Було встановлено, що застосування кумарину, ріпакового меду та меду із екстрактом буркуна білого (20, 10, 5%) зумовлює зниження усіх досліджуваних показників АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. Натомість 1%-й розчин меду із кумарином здатен збільшувати ступінь та швидкість агрегації.

Ріпаковий мед збагачений кумарином та ліофілізованим екстрактом квітів буркуна білого володіють значним інгібуючим ефектом на показники агрегації тромбоцитів *in vitro*. Проте, встановлений ефект зберігається лише за концентрації збагачених медів 20%. У нижчих досліджуваних концентраціях збагачення меду такими додатковими речовинами, як кумарин та ліофілізований екстракт квітів буркуна білого, значно не впливає на показники агрегації тромбоцитів.

**Красій М., Чала Д., Сабадашка М., Сибірна Н.**

**АНТИОКСИДАНТНА ДІЯ ЕКСТРАКТУ З ВИНОГРАДНИХ ВИЧАВОК,  
ЗБАГАЧЕНОГО ПОЛІФЕНОЛЬНИМ КОМПЛЕКСОМ, У ЛЕЙКОЦИТАХ  
ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ  
ДІАБЕТОМ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського ,4, м. Львів ,79005, Україна  
e-mail: martakrasij@gmail.com*

**Krasij M., Chala D., Sabadashka M., Sybirna N. ANTIOXIDANT EFFECT OF  
GRAPE POMACE EXTRACT, ENRICHED WITH POLYPHENOL COMPLEX, IN  
PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES.  
The aim of the study was to study the changes in the biochemical indicators of the structural**

and functional state of leukocytes in rats under diabetes-induced oxidative stress in the case of the introduction of an extract from grape pomace enriched with a polyphenolic complex (PC extract). Polyphenols have been found to prevent diabetes-induced lipid peroxidation and act as antioxidants. The obtained data on the content of carbonyl groups of proteins in leukocytes confirm the development of oxidative stress in these cells under the conditions of diabetes. The change of these biochemical indicators in leukocytes under the conditions of administration of the concentrate of the natural polyphenolic complex indicates the antioxidant properties of polyphenols.

Цукровий діабет є хронічним метаболічним розладом, що характеризується структурними та функціональними змінами лейкоцитів. Цукровий діабет асоціюється з хронічним системним запаленням, що призводить до активації лейкоцитів і їхнього рекрутингу в різні органи і подальшого ремоделювання тканини зоні запалення з часом. Метою дослідження було вивчити зміни біохімічних показників структурно-функціонального стану лейкоцитів щурів за діабет-індукованого оксидативного стресу у разі введення екстракту з виноградних вичавок, збагаченого поліфенольним комплексом (екстракт ПК).

Встановлено підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів у 1,7 рази в лейкоцитах за умов цукрового діабету, порівняно з контролем. При введенні досліджуваного екстракту тваринам з експериментальним цукровим діабетом встановлено зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів у лейкоцитах у 1,9 рази порівняно з даними, одержаними при діабеті. Встановлено, що поліфеноли проявляють себе як антиоксиданти та запобігають діабет-індукованій пероксидації ліпідів. Виявлено зростання вмісту карбонільних груп білків нейтрального характеру в лейкоцитах периферичної крові щурів з експериментальним цукровим діабетом у 2 рази порівняно з контролем. За введення екстракту ПК тваринам з експериментальним цукровим діабетом прослідковували зниження вмісту карбонільних груп білків нейтрального характеру в лейкоцитах у 2,2 раз порівняно з діабетом. Вміст карбонільних груп білків основного характеру за умов цукрового діабету в лейкоцитах зростає у 1,6 рази порівняно з контролем.

Одержані дані щодо вмісту ТБК-позитивних продуктів та карбонільних груп білків у лейкоцитах, підтверджують розвиток в цих клітинах оксидативного стресу за умов цукрового діабету. Зміна цих біохімічних показників у лейкоцитах за умов введення концентрату природного поліфенольного комплексу свідчить про антиоксидантні властивості поліфенолів.

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

**ЗАСТОСУВАННЯ СУСПЕНЗІЇ МІЦЕЛІЮ *GANODERMA LUCIDUM* (W. CURT.:FR.)**

**Р. KARST ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ ТА ДИСЛІПІДЕМІЇ ЗА  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: tetiana.petryn@lnu.edu.ua*

**Petryn T., Nagalievsk M., Sybirna N. APPLICATION OF *GANODERMA LUCIDUM* (W. CURT.:FR.) P. KARST MYCELIUM SUSPENSION FOR THE CORRECTION OF HYPERGLYCEMIA AND DYSLIPIDEMIA IN EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME.** The obtained results demonstrate the effect of the suspension of powdered mycelium of the *G. lucidum* fungus on some indicators of carbohydrate and

lipid metabolisms. The results indicate the possibility of using the active components of this mushroom to correct hyperglycemia and dyslipidemia under the condition of metabolic syndrome.

Метаболічний синдром (MetS) – це комплекс метаболічних порушень, таких як вісцеральне ожиріння, дисліпідемія, інсулінорезистентність, гіперглікемія та артеріальна гіпертензія. *G. lucidum* містить широкий спектр компонентів, таких як глікопротеїни, полісахариди, тритерпеноїди, сесквітерпеноїди, стероїди, алкалоїди, похідні бензопірану та бензойної кислоти, які вважаються ефективними в профілактиці та лікуванні багатьох захворювань, зокрема MetS. Високий терапевтичний потенціал міцелію гриба *G. lucidum* та достатньо обмежена кількість досліджень, щодо впливу цього гриба за експериментального MetS свідчить про перспективність цього напрямку і необхідність нагромадження експериментальних даних.

Метою роботи було дослідити вплив водної суспензії міцелію гриба *G. lucidum* на окремі діагностичні маркери вуглеводного та ліпідного обміну за вуглевод-індукованого MetS.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах самцях масою тіла 200–300 г, які були розділені на такі групи: 1) контрольні тварини (С); 2) контрольні тварини, яким протягом 7 діб вводили суспензію міцелію *G. lucidum* (С+G7); 3) контрольні тварини, яким протягом 14 діб вводили суспензію міцелію *G. lucidum* (С+G14); 4) тварини з експериментальним MetS (MetS); 5) тварини з MetS, яким протягом 7 діб вводили *G. lucidum* (MetS+G7); 6) тварини з MetS, яким протягом 14 діб вводили *G. lucidum* (MetS+G14). Вуглевод-індукований метаболічний синдром викликали споживанням протягом 42 днів 10% розчину фруктози замість питної води.

Введення *G. lucidum* тваринам з MetS протягом 7 діб та 14 діб не зумовлювало значних змін маси тіла тварин. Концентрація глюкози збільшилась на 10,3 (MetS +G7) та 4,3% (MetS +G14), а вміст глікозильованого гемоглобіну знизився на 41,2 (MetS +G7) та 66,1% (MetS +G14), щодо тварин з досліджуваною патологією. За умов експериментального MetS введення міцелію протягом 7 та 14 діб призводило до зниження концентрації тригліцеридів відповідно на 17,8 та 44,8%, холестеролу на 10,7 та 21,3%, ліпопротеїнів низької щільності на 14,8 та 28,4%, а також до збільшення концентрації ліпопротеїнів високої щільності на 11,9 та 21,5%, у порівнянні з MetS.

Отримані результати демонструють коригуючий вплив суспензії порошкоподібного міцелію гриба *G. lucidum* на показники вуглеводного та ліпідного обміну та вказують на доцільність використання активних компонентів цього гриба з метою корекції гіперглікемії та дисліпідемії, що супроводжують розвиток MetS.

**Стецюк В., Чала Д., Сабадашка М., Сибірна Н.**

**ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ ЕКСТРАКТУ З ВИНОГРАДНИХ ВИЧАВОК,  
ЗБАГАЧЕНОГО ПРИРОДНИМ ПОЛІФЕНОЛЬНИМ КОМПЛЕКСОМ, ЗА  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: stetsiuk.viktoria18@gmail.com*

**Stetsiuk V., Chala D., Sabadashka M., Sybirna N.** HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF GRAPE POMACE EXTRACT ENRICHED WITH NATURAL POLYPHENOLIC COMPLEX UNDER EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS. Grape pomace extract, enriched with a natural polyphenolic complex, can adjust the activity

of antioxidants and influence the content of protein and lipid oxidation products, which are the markers of oxidative stress.

Цукровий діабет - це група метаболічних захворювань, які характеризуються гіперглікемією в результаті дефектів секреції чи дії інсуліну (American Diabetes Association, 2008). Печінка є одним з основних органів, сприйнятливих до ушкоджуючого впливу оксидативного стресу, спричиненого гіперглікемією (Mohamed, 2016). Поліфеноли є альтернативою звичайним лікарським засобам, для лікування цукрового діабету, завдяки їхнім антиоксидантним властивостям і здатності поглинати вільні радикали (Bahadoran, 2013).

Метою роботи було дослідити зміни молекулярних маркерів оксидативного стресу у печінці щурів з експериментальним цукровим діабетом за введення екстракту з виноградних вичавок, збагаченого природним поліфенольним комплексом.

Дослідження проводили на самцях білих безпородних щурів масою 100 – 180 г. Експериментальний цукровий діабет індукували внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину.

Антиоксидантна система відіграє важливу роль у підтримці окисно-відновного балансу. До ферментних антиоксидантів належить супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонпероксидаза. Встановлено, що активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази знижується порівняно з контролем у 1,6 разів, 1,3 рази та 2,25 рази відповідно за умов цукрового діабету. При введенні екстракту з виноградних вичавок, збагаченого природним поліфенольним комплексом, у тварин з цукровим діабетом спостерігається підвищення активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази в 1,8 разів та 2,3 рази відповідно, порівняно з даними отриманими за експериментального цукрового діабету. Виявлено нормалізацію активності каталази, порівняно з даними отриманими за експериментального цукрового діабету.

За цукрового діабету активується велика кількість метаболічних механізмів, результатом дії яких є утворення активних форм кисню й формування оксидативного стресу, велику роль в якому відіграє окиснення білків і перекисне окиснення ліпідів. Згідно з одержаними результатами за умов цукрового діабету вміст карбонільних груп білків нейтрального та основного характеру зростав у тканинах печінки на 120% та на 105% відповідно, а вміст ТБК-позитивних продуктів зростав на 53% порівняно з контролем. За введення екстракту з виноградних вичавок, збагаченого природним поліфенольним комплексом, тваринам з цукровим діабетом виявлено зниження вмісту карбонільних груп білків нейтрального та основного характеру на 79%, та 49%, відповідно, а також виявлено зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів на 45%, порівняно з діабетом.

Отримані результати свідчать про те, що екстракт з виноградних вичавок, збагачений природним поліфенольним комплексом, здатний коригувати активність антиоксидантних ферментів та впливати на вміст продуктів окиснення білків і ліпідів, які є маркерами оксидативного стресу.

**Фуртак Х., Гачкова Г., Сибірна Н.**

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ КОЗЛЯТНИКА ЛІКАРСЬКОГО НА ПРОЦЕСИ ГЛІКАЦІЇ ТА  
ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ЗА УМОВ СТРЕПТОЗОТОЦИН-  
ІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

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

**Furtak K., Hachkova H., Sybirna N. THE EFFECT OF *GALEGA OFFICINALIS*  
L. EXTRACT ON THE PROCESSES OF GLYCATION AND OXIDATIVE**

MODIFICATIONS PROTEINS UNDER STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS. Immunocytochemical method of the studied content of the advanced glycation end products (AGEs) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) of the leukocyte and fluorometrical studied content of the oxidative modifications proteins in the plasma of blood under experimental diabetes mellitus and with the administration of alkaloid-free fraction of *Galega officinalis* L. extract. It has been shown beneficial effect of *Galega officinalis* L. extract on the content of AGEs products in rat leukocytes and oxidative modifications proteins in the plasma under experimental diabetes mellitus.

Хронічна гіперглікемія за цукрового діабету (ЦД) зумовлює посилення процесів неензиматичного глікозилювання (глікації) біомолекул. Процес неензиматичної взаємодії між редукуючими моносахаридами та аміногрупами білків (реакція Майяра), призводить до утворення кінцевих продуктів глікації (Advanced Glycation end Products, AGEs). Взаємодія AGEs з їхніми рецепторами (Receptor for advanced glycation end products, RAGEs), які локалізовані на плазматичній мембрані, змінює передачу внутрішньоклітинних сигналів, експресію генів, зумовлює вивільнення прозапальних цитокінів та призводить до підвищення рівня активних форм Оксигену (АФО) (Singh, 2014; Cho, 2007; Ahmed, 2005). Окисна пострасляційна модифікація білків та накопичення AGEs сприяє розвитку діабетичних ускладнень (Wall, 2012; Wautier, 2001).

Козлятник лікарський (*Galega officinalis* L.), відомий своєю гіпоглікемічною дією та застосовується у комплексній терапії ЦД (Khodadadi, 2016; Khokhla, 2010; Лупак, 2015).

Метою роботи було дослідити вплив безалкалоїдної фракції екстракту козлятника лікарського (БФЕКЛ) на вміст кінцевих продуктів глікації та їхніх рецепторів у лейкоцитах щурів, а також вміст окисно модифікованих білків у плазмі крові за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД).

ЕЦД індукували введенням стрептозотоцину (6,5 мг / 100 г маси тіла тварини). Через два тижні після індукції ЦД, тваринам *per os* вводили БФЕКЛ у дозі 0,6 г / кг маси тіла тварини, впродовж 14 діб.

Імуноцитохімічним методом підтверджено зниження кількості лейкоцитів з позитивною реакцією на вміст кінцевих продуктів глікації (AGEs<sup>+</sup>) (на 38%) та збільшення кількості RAGE<sup>+</sup>-лейкоцитів на 28% за умов введення БФЕКЛ здоровим тваринам та тваринам з ЕЦД не впливало на вміст AGEs у лейкоцитах крові. Натомість, доведено здатність цього екстракту знижувати вміст RAGE на мембранах імунокомпетентних клітин у тварин хворих на ЕЦД. Ступінь окисної модифікації білків оцінювали вимірюючи флюоресценцію залишків бітирозину в окиснених білках. Введення БФЕКЛ тваринам з ЕЦД запобігало окисненню білків по залишках тирозину, про що свідчить зниження їхнього вмісту до значень фізіологічної норми (на 66% порівняно з діабетом).

Отримані результати дають підстави зробити висновок про коригуючий вплив БФЕКЛ на процеси глікації та окисної модифікації білків за умов ЕЦД.

**Ячна М., Апецько А.**

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ТКАНИН КОРОПА ЛУСКАТОГО  
*CYPRINUS CARPIO L.* ЗА ТОКСИЧНИХ УМОВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка

вул. Гетьмана Полуботка, 53, 14037 м. Чернігів,

e-mail: mekhedolga@gmail.com

**Yachna M., Apetsko A.** CHANGES IN ACTIVITY OF TISSUE ENZYMES OF  
SCALED CARP *CYPRINUS CARPIO L.* UNDER TOXIC CONDITIONS OF THE

AQUATIC ENVIRONMENT. A study was conducted to determine the changes in enzymatic activity in fish tissues under the toxic effect of herbicides in combination with zinc ions, which is quite relevant, as it contributes to the development of new and effective methods for diagnosing the state of the animal organism by toxic environmental conditions. It was established that the activity of enzymes in the tissues and organs of scaly carp has its own characteristics. For example, the activity of LDH and G-6-FDH under the herbicides Zenkor and 2, 4-D increases in all samples, while that of Roundup in the brain and liver decreases.

Було проведено дослідження з визначення змін ферментативної активності в тканинах риб за токсичного впливу гербіцидів (Зенкор, Раундап та 2,4-Д) в поєднанні з йонами Цинку, що є досить актуальним, оскільки сприяє розробці нових та ефективних методів для діагностики стану організму тварин за токсичних умов середовища (Yakovenko V. V., Tretyak O. P., Mekhed O. B., Iskevych O.V., 2018). Метою роботи було вивчити токсичний вплив гербіцидів (Зенкор, Раундап та 2,4-Д) в поєднанні з йонами Цинку на активність ферментів гліколізу (лактатдегідрогеназа - ЛДГ), циклу трикарбонових кислот (малатдегідрогеназа -МДГ, ізоцитратдегідрогеназа-ЩДГ) та пентозофосфатного шляху (глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа- Г-6-ФДГ)) в тканинах та органах коропа лускатого (*Cyprinus carpio L.*). Визначення активності ферментів ЛДГ, МДГ, ЩДГ та Г-6-ФДГ здійснювали спектрофотометрично за загальноприйнятими методиками (Biochemica information, 1974).

Встановлено, що активність ферментів гліколізу (ЛДГ), циклу трикарбонових кислот (МДГ, ЩДГ) та пентозофосфатного шляху (Г-6-ФДГ) в тканинах та органах коропа лускатого гербіцидного токсикозу має свої особливості. Наприклад, активність ЛДГ та Г-6-ФДГ за впливу гербіцидів Зенкор 2,4-Д зростає у всіх зразках, тоді як Раундап – знижує активність цих ферментів і мозку і печінці. Результати активності ферментів циклу Кребса подібні до зміни активності ЛДГ, лише з певними відмінностями щодо впливу Раундапу. Він майже не активує МДГ в білих м'язах і печінці, а також інших зразках активність ЩДГ навпаки знижується.

**Chala D., Sabadashka M., Karmash O., Sybirna N.**

**IMPACT OF GRAPE POMACE EXTRACT ENRICHED WITH NATURAL COMPLEX OF POLYPHENOLS ON OXIDATIVE-NITRATIVE STRESS OF LEUKOCYTES UNDER DIABETES MELLITUS**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskogo, 79005 Lviv, Ukraine  
e-mail: Dariya.Hertsyk@lnu.edu.ua*

During last year's people from all over the world pay their attention to such diseases as coronavirus, or even monkey pox. However, it is important to remember that also highly increase quantity of people with diabetes mellitus. This disease often is diagnosed on late stages that can be lethal for people. Thus, it is important to pay attention even to the smallest disorders of organism's, and, if it is possible, to correct such violations. All functional systems of organism are affected under diabetes mellitus, in particular the immune system (Berbudi, 2020). The leukocytes are integral elements of that system. It is better to use drugs of natural origin to adjust such disorders, as they show fewer side effects than synthetic analogues (Farooq, 2020). The basis for such drugs can be polyphenolic compounds of grape pomace extract, because their sugar-lowering and antioxidant activity *in vitro* have been established.

The aim of our research was to study the effect of grape pomace extract enriched with natural complex of polyphenols on leukocyte antioxidant enzymes, on the level of

oxidative stress markers and elements of L-arginine / Nitrogen (II) oxide (NO) system under experimental type 1 diabetes mellitus.

Diabetes mellitus is accompanied by the development of oxidative-nitrative stress. The development of oxidative-nitrative stress was detected in the leukocytes of peripheral blood of rats under experimental diabetes mellitus. In particular, decreased activity of catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and increased levels of products of oxidative modification of proteins and TBA-active products were detected in leukocytes of rats with experimental diabetes mellitus. We have also discovered an increase of total activity of NO-synthase (NOS) and activity of inducible NOS (iNOS), and also an accession of nitrite- ( $\text{NO}_2^-$ ) and nitrate- ( $\text{NO}_3^-$ ) anions levels under studied conditions.

The activities of antioxidant enzymes (CAT, GPx, and SOD) were the same in leukocytes of rats with diabetes mellitus, which during two weeks were treated with grape pomace extract enriched with natural complex of polyphenols as in control rats. Treatment with the extract also normalized levels of products of oxidative modification of proteins and TBA-active products under experimental diabetes mellitus. Such results can be related to the antioxidant effect of polyphenolic compounds, especially their scavenger activity (Sabadashka, 2021). Grape pomace extract caused a tendency to decrease in total activity of NOS and activity of iNOS in leukocytes of rats with diabetes mellitus. Polyphenolic compounds also normalized levels of  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{NO}_3^-$  under experimental diabetes mellitus. Investigated complex can provide such effect be due to the ability of polyphenolic compounds to influence various signalling pathways of cells (Magrone, 2020), as well as due to scavenger activity of polyphenols.

The results have shown positive effect of studied extract under conditions of oxidative-nitrative stress in leukocytes and confirmed antioxidant activity of grape pomace extract enriched with natural complex of polyphenols. The received extract can correct disorders and inhibit oxidative-nitrative stress caused by diabetes mellitus. Hence, natural complex of polyphenols of grape pomace extract should be considered as potential basis for new diabetes-correcting drugs.

**Kurhaluk N., Tkachenko H.**

**ACTIVITY OF LYSOSOMAL ENZYMES IN THE KIDNEYS OF MICE  
WITH SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME**

*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk,*

*Department of Biology, Słupsk, Poland*

*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*e-mail: natalia.kurhaluk@apsl.edu.pl*

Lysosomal enzymes are often used to estimate the interrelationship between intensified inflammation states caused by oxidative stress and tissue damage (Donohue and Thomes, 2014). For example, lysosomal enzymes can be used as markers to differentiate alcohol-related pancreatitis from other forms of acute pancreatitis (Heresbach et al., 1994), cardiovascular diseases, and alcohol toxicity (Li et al., 2014). Lysosomes play a key role in important autophagy pathways, i.e., microautophagy and chaperone-mediated autophagy (Donohue, 2009). Lipopolysaccharide (LPS), i.e. the main component of the Gram-negative bacterial membrane, is often used to mimic diseases and behavior in experimental animals (Wang and Quinn, 2010; Maldonado et al., 2016). Sepsis is the leading cause of acute kidney injury in critically ill patients, characterized by a rapid decrease in renal function accompanied by multiorgan dysfunction syndromes (Uchino et al., 2005; Bagshaw et al., 2007; Li et al., 2021). In the current study, the activity of lysosomal enzymes was evaluated in a model of LPS-induced oxidative stress in mice. The activity of alanyl aminopeptidase,

leucyl aminopeptidase, acid phosphatase, and  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase was measured in the renal tissue of white Balb/c mice.

Healthy male white Balb/c mice (*Mus musculus*), weighing about 20–30 grams and aged about 2–3 months, were used in the experiments. The data were collected from 12 adult animals divided into two groups, i.e. untreated control (6 animals) and LPS-induced systemic inflammatory response syndrome (6 animals). The experiments were performed by the Guidelines of the European Union Council and the current laws and were approved by the Ethical Commission (2612/2016).

Lipopolysaccharide [*Escherichia coli* LPS 026:B6; Sigma-Aldrich Sp. z.o.o, Poznan, Poland; lyophilized powder chromatographically purified by gel filtration (protein content < 1%) was used for modelling systemic inflammatory response syndrome in mice. Shortly before use, LPS was dissolved in sterile normal saline (0.9% NaCl). Injections of LPS were administered once, intraperitoneally, at a dose of 150  $\mu$ g per mouse, as described by Blanqué and co-workers (1999) and Yang and co-workers (2013). Negative control mice were injected with 0.9% NaCl. Samples were collected 24 h after the last drug administration. The kidneys were removed immediately from mice after decapitation. Tissues were excised, weighed, washed in ice-cold buffer, and minced. Minced tissues were rinsed with cold isolation buffer 0.15 M KCl to remove the blood and homogenized in a glass Potter-Elvehjem homogenizer with a motor-driven Teflon pestle on ice. The isolation buffer consisted of 0.25 M sucrose and 2 mM EDTA; the pH was adjusted to 7.0 with KOH. Homogenates of kidneys (20% w/v) were prepared for the next differential centrifugation according to the method described by DeMartino and Goldberg (1978). After centrifugation, the supernatant fractions were saved and used after resuspension in 50 mM acetic acid/sodium acetate buffer, pH 5.0. These isolation fractions were homogenized and subjected to two freeze-thaw cycles.

The activity of alanyl aminopeptidase (EC 3.4.11.2) and leucyl aminopeptidase (EC 3.4.11.1) was determined spectrophotometrically as Fast Blue BB salt (4-benzoyloamino-2,5-diethoxybenzene-diazonium chloride) derivatives at 540 nm according to McDonald & Barrett (1986). The reaction was initiated by mixing 50  $\mu$ l of sample and 500  $\mu$ l of substrate incubation media with DMF (Serva, Germany), 60 min incubation at 37 °C, pH 6.0. Next, 500  $\mu$ l of stop buffer containing Fast Blue BB Salt dissolved in 2% Tween 20 (Sigma, USA) was added, and measurements were carried out at 540 nm. For the determination of alanyl aminopeptidase activity, L-alanyl-2-naphthylamine in 0.1 M PBS buffer was used as a substrate. L-leucyl-2-naphthylamine in 0.1M PBS (pH 7.0) buffer was used as a substrate for the determination of leucyl aminopeptidase activity. Activities of other lysosomal enzymes, such as acid phosphatase (EC 3.1.3.2) and  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase (EC 3.2.1.30), were determined spectrophotometrically as 4-nitrophenyl derivatives at 420 nm and measured as described by Barret and Heath (1977). The activity of enzymes was expressed in nmol per h and mg of protein.

Results were expressed as mean  $\pm$  S.D. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors tests ( $p > 0.05$ ) and homogeneity of variance was checked by using Levene's test. The significance of differences in parameters between untreated control and LPS-affected groups was examined using a one-way analysis of variance (ANOVA). We also used Bonferonni's post-test (Zar, 1999). Statistical analysis was carried out in one way, i.e. the LPS-induced systemic inflammatory response syndrome was compared with those of the untreated control group. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ . All statistical calculations were performed on separate data from each group with STATISTICA 13.3 software (StatSoft Inc., Poland).

LPS doses used in this experiment were similar to those found in subjects with diabetes or metabolic syndrome. We analyzed the activity of two enzymes, i.e., membrane alanine-aminopeptidase (AAP), which catalyzes the hydrolysis of the peptide bond, and cytosol leucine-aminopeptidase (LAP) in the kidney of mice with LPS-induced systemic



inflammatory response syndrome. The AAP activity was significantly increased in the LPS-exposed mice compared to the untreated control group ( $666.39 \pm 42.17 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein vs.  $344.58 \pm 22.66 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein, increase by 93.4%,  $p < 0.05$ ). The LAP activity was non-significantly lower in the LPS-exposed group compared to the untreated control mice ( $124.35 \pm 14.01 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein vs.  $163.81 \pm 19.53 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein, by 24%,  $p > 0.05$ ). The next step of our investigations was focused on acid phosphatase (AcP) activity ( $F_{7,41} = 11.19$ ,  $p = 0.000$ ) during acute LPS-induced stress. In our study, LPS-induced systemic inflammatory response syndrome statistically significant increased the AcP activity compared to the untreated controls, i.e. ( $2128.05 \pm 84.16 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein vs.  $936.58 \pm 85.17 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein, by 127.2%,  $p = 0.000$ ).  $\beta$ -N-Acetylglucosaminidase (NAG) is a lysosomal enzyme expressed in various tissues, including the liver, kidney, and lungs. NAG activity was significantly higher in the kidney of the LPS-exposed group compared to the untreated control mice ( $361.33 \pm 29.05 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein vs.  $193.72 \pm 19.25 \text{ nmol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein, increase by 86.5%,  $p < 0.05$ ).

Recent studies have shown that autophagy upregulation can attenuate sepsis-induced acute kidney injury. Sun and co-workers (2021) revealed that the tumor suppressor p53 has emerged as an autophagy regulator in various forms of acute kidney injury (Sun et al., 2021). The findings of Tan and co-workers (2021) indicated that inhibition of aerobic glycolysis protected against sepsis-induced acute kidney injury by promoting autophagy via the lactate/SIRT3/AMPK pathway. LPS up-regulated the expression of the SIRT6 gene in HK-2 cells. Overexpression of the SIRT6 gene could inhibit apoptosis and induce autophagy, which might be involved in repairing kidney damage caused by LPS (Zhang et al., 2019).

In summary, our findings demonstrated that the LPS-induced oxidative stress caused activation of lysosomal enzymes. Alanine aminopeptidase, acid phosphatase, and  $\beta$ -N-acetylglucosaminidase were activated and can serve as biomarkers of systemic inflammatory response syndrome.

*This research has been supported by The Visegrad Fund (Bratislava, Slovak Republic), and it is cordially appreciated by the authors.*

**Martyniuk V.<sup>1</sup>, Khoma V.<sup>1</sup>, Matskiv T.<sup>1,2</sup>, Yunko K.<sup>1</sup>, Gnatyshyna L.<sup>2</sup>, Stoliar O.<sup>1</sup>, Faggio C.<sup>3</sup>**

BIOCHEMICAL RESPONSES IN BIVALVE MOLLUSC *UNIO TUMIDUS* TO PHARMACEUTICAL SALINOMYCIN AND MICROPLASTIC UNDER THE HEATING

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

M. Kryvonosa Str. 2, 46027 Ternopil, Ukraine

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

Maidan Voli 1, 46001 Ternopil, Ukraine

<sup>3</sup> Department of Chemical, Biological, Pharmaceutical and Environmental Sciences  
University of Messina Viale Ferdinando Stagno d'Alcontres, 31, 98166 S. Agata-Messina,  
Italy

e-mail: oksana.stolyar@tnpu.edu.ua

Veterinary pharmaceuticals are emerging contaminants found throughout the environment, and their presence and effects are a matter of concern. Polyether antibiotic and carboxyl ionophore salinomycin (Sal) is utilized as the anticoccidial veterinary drug and, correspondingly, it is detected in the surface waters in ng/L- $\mu$ g/L concentrations (Mooney et al., 2020). The aim of this study was to elucidate the antioxidant and biotransformation responses in bivalve mollusk under Sal sub-chronic exposure. Among aquatic contaminants, microplastic (MP), the small particles of plastic (< 5 mm) attracts the growing concern (Prokic et al., 2021). Besides its own ability to accumulate in the biological tissues and cause morphophysiological and biochemical damages, MP can interact with other

contaminants, particularly hydrophobic substations, like Sal. The changes in the temperature regime that have manifestations of heat waves are intrinsic environmental confounding factors of nowadays (Freitas et al., 2020).

With the aim to elaborate the environmental friendly model of the multistress effect on the freshwater bivalve mollusks, we treated bivalve mollusk *Unio tumidus* with Sal (0.6 µg/L), MP (1mg L / 1, 2 µm size), or their combinations under the temperatures 18 °C (Mix) and 25°C (MixT) for 14 days. We studied the enzymes of antioxidant defense Mn- and Cu, Zn-superoxide dismutase (SOD), catalase, the lipid peroxidation products (TBARS) and protein carbonyls, and biotransformation enzymes cytochrome P450 (CYP450) related ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) and glutathione S-transferase (GST) activities.

Among oxidative stress indexes, catalase shown the up-regulation in the exposures to Sal and Mix under the 18 °C (by 18-28%). On the contrary, in the MixT-group its activity decreased by 19% compared to control. The Mn-SOD activity increased in the Mix and MixT groups, and Cu, Zn-SOD activity decreased in the Mix-group compared to control. No changes in the TBARS production were indicated. The level of the protein carbonyls increased by 19% in the Sal-group only. EROD was prominently up-regulated in the Mix group (by 34.3%) and decreased compared to control by 39.5% in the MixT-group. GST activity increased in all exposures at 18 °C, particularly in the Mix-group (by 114.8%). The combine exposures caused the decrease in the soluble protein concentration in digestive gland.

To summarize, in this study we confirmed that the MP per se in the environmentally relevant concentration did not cause the substantial molecular damage in the bivalve mollusk, confirming the data of literature and our previous results (Martyniuk et al., 2022). However, it substantiality misstated the response to Sal which also in the single exposure was almost of negligible effect. However, the main finding was the diminishing of the specific responses to mixture under the heating. Indeed, the correlated responses of catalase and GST can provide the effective antioxidant defence and elimination of toxic products at 18 °C. However, under the heating this activation was lost. This response needs particular attention regarding the forecast of the sensitivity of aquatic biota to the heating and exhausting adaptive ability (Lushchak, 2014).

This work has been granted to Oksana Stoliar by the Ministry of Education and Science of Ukraine (Projects ## M-70/2021, No M-13/2022 under French-Ukrainian Cooperation Program) and University of Messina, Italy (Award of Visiting professor in the academic year 2022/2023).

**Matskiy T.<sup>1,2</sup>, Martyniuk V.<sup>1</sup>, Khoma V.<sup>1</sup>, Yunko K.<sup>1</sup>, Orlova-Hudim K.<sup>3</sup>,  
Gnatyshyna L.<sup>2</sup>, Geffard A.<sup>4</sup>, Palos-Ladeiro M.<sup>4</sup>, Stoliar O.<sup>1</sup>**

**POPULATION DEPENDENT RESISTANCE OF BIVALVE MOLLUSK  
*DREISSENA POLYMORPHA* IN THE COMBINE EXPOSURE TO CAFFEINE,  
MICROPLASTIC AND HEATING**

<sup>1</sup> Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University  
2, M. Kryvonosa Str., Ternopil, 46027 Ukraine

<sup>2</sup> I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
1, Maidan Voli, Ternopil, 46001 Ukraine

<sup>3</sup> Kherson State University, 27, University Str., Kherson, 73000 Ukraine

<sup>4</sup> Université de Reims Champagne-Ardenne, Normandie Université,  
ULH, INERIS, SEBIO, UMR-I 02, Reims, France  
e-mail: Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

The adaptation of populations to the local environment can contribute to their resistance to additional confounding effects. Several studies confirm this statement for the bivalve mollusks from the chronically polluted areas (Pain-Devin et al., 2014; Martinyuk et al., 2022). The zebra mussels

*Dreissena polymorpha* (Bivalvia) is an invasive species that spread to new reservoirs in Europe and North America from Ponto-Caspian region. Zebra mussel is one of most active filter-feeders and sedimentators that remove particles from the water column. However, biochemical basis of the unique properties of this species to adapt to new surrounding is not clear. The aim of this study was to assess the resistance of zebra mussels from native and invaded reservoirs in the "stress on stress" laboratory experiment. The specimens of zebra mussels, from the pond located at the upstream portion of the Dniester basin (west Ukraine, invasive population, Tn) and from the river Dnipro near the city of Kherson (Kh, native population) were sampled in August 2021. After acclimation period, mollusks from each site were treated with microplastic (MP, 1 mg L<sup>-1</sup>, pore size 2 µm); caffeine (Caff, 20.0 µg L<sup>-1</sup>) at 18 °C, and at elevated temperature (25°C, T) and MP and Caf combinations at 18 °C (Mix) and 25 °C (MixT) for 14 days. Untreated mollusks from both sites (TnC- and KhC-groups) were also examined after the same time of being in the laboratory tanks. A set of the indexes of oxidative stress, biotransformation and detoxification systems, and apoptotic activities were assayed in the total soft tissues of mollusks.

Generally, the single exposures to MP and Caf did not cause the prominent responses, whereas heating, Mix and MixT induced a great changes compared to control values. Particularly, the heating distorted the phenol oxidase, cathepsin D, glutathione S-transferases (GSTs) responses to Mix in both populations. The application of PCA indicated some common regularities for different indexes of set functionality. It was shown a strong loading of the set of enzymes (superoxide dismutase, catalase, GST, acid phosphatase, phenol oxidase, cholinesterase, Cyp-450 related EROD and cathepsin D across Factor 1, whereas the indexes of thiols (reduced and oxidized glutathione, metallothioneins) and total Zn and Cu concentrations in the tissues belonged jointly with lysosomal stability and caspase-3 to Factor 2. Nevertheless, the severity of responses was distinct in two populations. According to canonical discriminant analysis, the specimens from two populations were interseparated. Within the Kh population, KhC, KhMP and KhCaf created a common domen distanced from KhT, KhMix and, particularly, from KhMixT group with the correct classification of 87.5-100% specimens in each group. On contrary, Tn-specimens were less correctly classified, particularly within the TnC, TnMP and TnCaf groups. These results add to the understanding of the resistance of invasive population to the novel environmental challenges compared with the native population.

This work has been granted to Melissa Palos-Ladeiro and Oksana Stoliar by the research program PHC DNIPRO n 46800RK and Ministry of Education and Science of Ukraine (## M-70/2021, M-13/2022) under the French-Ukrainian Cooperation Program

**Matskiv T.<sup>1,2</sup>, Yunko K.<sup>1</sup>, Martyniuk V.<sup>1</sup>, Khoma V.<sup>1</sup>, Orlova-Hudim K.<sup>3</sup>,  
Gnatyshyna L.<sup>2</sup>, Geffard A.<sup>4</sup>, Palos-Ladeiro M.<sup>4</sup>, Stoliar O.<sup>1</sup>**  
BIOCHEMICAL COMPARISON OF THE INVASIVE AND NATIVE BIVALVE  
MOLLUSK *DREISSENA POLYMORPHA*. UNIQUE EXPERIENCE OF KHERSON  
FIELD STUDY

<sup>1</sup> Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University  
M. Kryvonosa Str. 2, 46027 Ternopil, Ukraine

<sup>2</sup> I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
Maidan Voli 1, 46001 Ternopil, Ukraine

<sup>3</sup> Kherson State University, University Str., 27, 73000 Kherson, Ukraine

<sup>4</sup> Université de Reims Champagne-Ardenne, Normandie Université,  
ULH, INERIS, SEBIO, UMR-I 02, Reims, France  
e-mail: Oksana.Stolyar@tnpu.edu.ua

Among the bivalve mollusks, the zebra mussels *Dreissena polymorpha*: *Dreissenidae*, are known as highly successful invasive species that distributed in Europe

and North America from Ponto-Caspian region, including southern Ukraine. The spread of the zebra mussel has been followed by ecologic and economic devastation of unprecedented magnitude. Zebra mussel is one of the most active filter-feeders and sedimentators, they are utilized in the biomonitoring purposes (Palos-Ladeiro et al., 2017). However, the molecular basis for their resistance to environmental challenges coupling with high plasticity of their responses to new environment remains unclear (Gnatyshyna et al., 2020). In this collaboration we realized the unique (due to the war reality we lost for this moment the access to native population) opportunity to compare the resilience of stress-reactivity in the native and invasive populations of zebra mussels for the elucidation of the benefits of this species regards adverse outcome pathway (AOP).

The specimens of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, were sampled from a site in the upstream portion of river Seret (the tributary of Dnister, west Ukraine, invasive population) at the pond of the city of Ternopil (Tn) and in the lower portion of the river Dnipro near the city of Kherson (Kh, native population) in June of 2021. A broad spectrum of the indexes of oxidative stress, metallothionein (MT) functionality, the biomarkers of toxicity and apoptotic activities were assayed in the total soft tissues of mollusks.

The comparison of two populations has shown the similarity between two populations in the several studied indices. In particular, the mussels had no significant differences in the values of soluble protein, level of MT protein, MT-bound and total Zn in the tissues, Cyp450-related EROD, phenol oxidase, cholinesterase and citrate synthase activities, indicating the resistance of these populations in terms of immunity, detoxification and energy metabolism. However, two populations demonstrated the dramatic differences in the oxidative stress related indexes. The Kh-mussels had lower activities of GST, Zn, Cu-superoxide dismutase (SOD), but higher activities of SOD minor form (Mn-SOD), catalase, higher levels of glutathione, its redox state, lipid peroxidation products (TBARS) and ~ three time lesser level of Cu in the tissues. All these manifestations attested the depression of antioxidant defence in the invasive population that can assist to overcome a new challenges. The most prominent inter-population differences were related apoptotic and lysosomal functionality. The Kh-population was attested by the remarkable higher (by four times) caspase-3 activity, elevated cathepsin D total and extra-lysosomal activities, whereas acid phosphatase and lysosomal membrane stability (NRR test) had significantly lower values in this population. To summarize, according to our results, the oxidative stress and apoptotic/autophagy responses were the main intermediary key points determined the preferences of zebra mussel as invasive species.

This work has been granted to Melissa Palos-Ladeiro and Oksana Stoliar by the research program PHC DNIPRO n 46800RK and Ministry of Education and Science of Ukraine (## M-70/2021, M-13/2022) under the French-Ukrainian Cooperation Program.

**Moroz A.<sup>1</sup>, Peretyatko T.<sup>1</sup>, Brodyak I.<sup>1</sup>, Kucharska A.<sup>2</sup>, Sybirna N.<sup>1</sup>**

ANTIMICROBIAL EVALUATION OF FRUIT EXTRACT  
FROM CORNELIAN CHERRY (*CORNUS MAS* L.)

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

<sup>2</sup>*Wrocław University of Environmental and Life Sciences, C.K.  
Norwida 25, 50-375 Wrocław, Poland  
e-mail: Anna.Moroz@lnu.edu.ua*

Fungal infections are an extremely important health problem. Yeasts cause a wide range of infections that range from skin to systemic bloodstream infections and organ

disease in immunocompromised and critically ill patients. They have specific properties that contribute to the penetration of the host cell, as well as the protection of their own cells, for example, the formation of a biofilm.

Due to the lower toxicity and frequency of side effects, medicinal plants are very popular in the treatment of infectious diseases. The plant raw materials show medicinal activities such as antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities. *Cornus mas* L. is a source of vitamins and minerals, including potassium,  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid, biotin, riboflavin and contains a large amount of anthocyanins and iridoids.

Therefore, the aim of our work was to investigate the antimicrobial activity of extracts of red and yellow fruits of *Cornus mas* L. and pure loganic acid extract from *Cornus mas* L. fruits.

The antimicrobial effect of the extracts was tested on the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Yarrowia lipolytica* using the microculture method and the agar diffusion method using wells. The yeast strains were cultured for 24 h at 30 °C in a Wort Agar. Working concentrations of extracts were: 0.005; 0.025; 0.05; 0.25; 0.5; 2.5; 5.0; 10.0 and 20.0 mg/ml.

According to the results of microculture method, it was established that extracts of the yellow and red *Cornus mas* L. fruits only at the concentrations of 2.5 and 5 mg/ml caused inhibition of accumulation of *S. cerevisiae* and *Y. lipolytica* biomass. Extracts of the red and yellow fruits of the cornelian cherry and "Loganic acid" at the concentrations in a range from 0.005 to 0.5 mg/ml did not cause the significant changes in the accumulation of yeast biomass. The "Loganic acid" extract, which contains only iridoid compounds, did not show antimicrobial properties against yeasts at all tested concentrations from 0.005 to 5 mg/ml.

Analyzing the results obtained by the method of diffusion in agar using wells, it was investigated that the extract of red fruits of *Cornus mas* L. at concentrations of 2.5 and 5.0 mg/ml caused a slight effect on the yeasts *S. cerevisiae* and *Y. lipolytica*. However, at the concentrations of 10.0 and 20.0 mg/ml, we observed a more pronounced antimicrobial activity of the extract. The extract of yellow fruits of *Cornus mas* at the similar concentrations caused a zone of inhibition of yeast growth from 4 to 8.5 mm.

We can make an assumption that the antifungal effect of the extracts of the fruits of the cornelian cherry depends on their concentration and composition. This investigation effect of the extracts can be explained only by the complex influence of flavonols, iridoids, phenolic acids, and anthocyanins.

**Skrynnyk H-Y., Sabadashka M., Sybirna N.**

CHANGES IN KEY HEMATOLOGICAL INDICATORS IN RATS WITH  
EXPERIMENTAL DIABETES AFTER ADMINISTRATION OF CONCENTRATE OF  
NATURAL POLYPHENOL COMPLEX FROM RED GRAPE WINE

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskogo Str., Lviv, 79005, Ukraine  
e-mail: hrystyna68@gmail.com*

Diabetes is a complex metabolic disorder, the main clinical and diagnostic feature of which is hyperglycemia. The disease roughly doubles the risk of a wide range of cardiovascular diseases, including coronary heart disease and stroke. Diabetes has reached epidemic proportions, affecting hundreds of millions of people worldwide, so studying this problem is very urgent.

Natural phenolic compounds are a group of biologically active substances and their derivatives that contain an aromatic ring with one or more hydroxyl groups. It is known that red wine polyphenols can change the antioxidant defence system state due to the effect on the intracellular concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  and the phosphorylation of key proteins of the phosphatidylinosyl-3'-kinase/Akt pathway under the conditions of short-term incubation with cells. These compounds also have the ability to neutralize active forms of oxygen and influence on haematological parameters.

The purpose of our study was to investigate changes in key haematological indicators in rats with experimental diabetes after administration of a concentrate of natural polyphenolic complex from red grape wine produced in Odessa region, Ukraine.

We investigated the total concentration of haemoglobin in peripheral blood and the content of glycated haemoglobin – a key parameter for assessing the duration of hyperglycemia.

Polyphenolic complex concentrate of red grape wine was obtained by evaporation of red grape wine and its stabilization was carried out with biogenic surfactants (biosurfactants) – products of biosynthesis of *Pseudomonas* sp. In the experiments, white non-linear male rats weighting of 150–180 g were used. We used the following groups: 1 – control; 2 – control animals that were orally administered polyphenolic complex concentrate of red grape wine in a daily dose of 9.5 mg of polyphenolic compounds per 1 kg of body weight; 3 – rats with streptozotocin-induced diabetes; 4 – animals with diabetes, which were administrated polyphenolic complex concentrate of red grape wine.

It was shown that haemoglobin concentration in peripheral blood decreased in experimental diabetes. Administration of polyphenolic complex concentrate of red grape wine to rats with experimental diabetes caused the normalization of total haemoglobin concentration.

A glycated haemoglobin level is used as an index for clinical diagnosis of diabetes. The content of glycated haemoglobin in the blood increased in experimental diabetes. When the concentrate of polyphenol complex was administered to rats with experimental diabetes, a normalization of the glycated haemoglobin index was observed.

**Stefanowski N., Lubińska L., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

PROTEIN OXIDATION IN THE ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TREATED *IN VITRO* BY EXTRACTS DERIVED FROM STALKS AND ROOTS OF GREATER CELANDINE (*CHELIDONIUM MAJUS* L.)

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Science, Pomeranian University in Słupsk,*

*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*e-mail: halyna.tkachenko@apsl.edu.pl*

The use of wild plants, either as a source of food or for medicinal purposes, is a growing tendency to increase (Gupta and Acharya, 2019). The World Health Organization (WHO) estimates that 4 billion people (80% of the World's population) use herbal medicines in some aspects of primary healthcare (Gossell-Williams et al., 2006; Eshwarappa et al., 2015). The medicinal properties of plants have been investigated and explored for their potent antioxidant activities to counteract metabolic disorders, which with no side effects and with high economic viability (Auddy et al., 2003; Shrestha et al., 2013; Eshwarappa et al., 2015). Also, the WHO has listed a total of 21,000 plants, which are used for medicinal purposes around the world. Among them, more than 400 plants are available for the treatment of diabetes (Kumar et al., 2021). In this context, *Chelidonium majus* L. (CM, Papaveraceae)

belongs to medicinal, latex-bearing plants. This plant is of great interest for its use also in Chinese herbal medicine (Gilca et al., 2010). Extracts from the plant are a rich source of pharmacologically active agents. CM contains, as major secondary metabolites, isoquinoline alkaloids, such as sanguinarine, chelidonine, chelerythrine, berberine, and coptisine (Habermehl et al., 2006; Zielińska et al., 2020). Other compounds structurally unrelated to the alkaloids have been isolated from the aerial parts: several flavonoids and phenolic acids (Colombo and Bosisio, 1996). CM extracts and their purified compounds exhibit antioxidant, antitumor, and antimicrobial properties in both *in vitro* and *in vivo* studies (Jakovljevic et al., 2013; Capistrano et al., 2015; Zielińska et al., 2018, 2020).

The aim of the current study was the assessment of the effects of extracts derived from stalks and roots of CM collected from rural and urban agglomerations of Pomeranian regions on levels of aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins (OMP) as biomarkers of the protein oxidation in the blood samples collected from patients with type 2 diabetes mellitus after *in vitro* incubation with these extracts. This study is a continuation of our previous assessment of the antibacterial and antioxidant effects of extracts derived from stalks and roots of great celandine collected from rural and urban areas of the Pomeranian region (northern Poland, central Pomeranian region) (Stefanowski et al., 2021-2022).

Plant materials were harvested from natural habitats on the territory of the Kartuzy district (54°20'N 18°12'E) in the Pomeranian province (northern part of Poland). Plants were collected from urban (n = 5) and rural agglomerations (n = 15) on the territory of the Kartuzy district. The collected roots and stalks were brought into the laboratory for biochemical studies. Freshly washed samples of plants were weighed, crushed, and homogenized in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) (in proportion 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.

A total of 7 patients with type 2 diabetes mellitus between 42 and 68 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 (Lębork, Poland). A detailed medical history was taken, and a physical examination was performed on all participants. The Research Ethics Committee of the Regional Medical Commission in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-21/19). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Participants included in the current study were selected according to the following criteria: first, they were diagnosed with type 2 diabetes mellitus patients; second, they were free of any ailment which could affect the parameters under study. Haemolytic anaemia, haemoglobin 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. The Research Ethics Committee of the Regional Medical Commission in Gdańsk (Poland) approved the study (KB-31/18). All patients provided written informed consent before the start of the study procedures. Venous blood samples (25 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. Blood samples were stored at +4°C and used within 2 days for the analysis. 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 haematocrit level. Blood samples were incubated with 4 mM phosphate buffer (pH 7.4) (untreated controls) and pre-incubated with the extracts (in a

final concentration of 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. 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). Carbonyl groups were determined spectrophotometrically from the difference in absorbance at 370 nm (aldehydic derivatives, OMP<sub>370</sub>) and 430 nm (ketonic derivatives, OMP<sub>430</sub>).

Statistical analysis of the data obtained was performed by employing the mean ± S.E.M. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the levels of oxidative stress biomarkers (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Kruskal–Wallis one-way analysis of variance. The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) using Statistica software, version 13.3 (StatSoft, Poland).

Results of the current study revealed a statistically significant increase in the level of aldehydic derivatives of OMP after incubation of erythrocyte suspensions with extracts derived from roots of CM collected from rural areas ( $22.92 \pm 1.13$  nmol/mL) compared to the control untreated samples ( $14.68 \pm 0.40$  nmol/mL). There was a statistically significant increase in biomarkers of protein damage by 56.1% ( $p < 0.05$ ). After *in vitro* incubation of extracts derived from roots of CM collected from urban areas, we also noted an increase in levels of aldehydic derivatives of OMP ( $17.63 \pm 2.05$  nmol/mL) compared to the control untreated samples ( $14.68 \pm 0.40$  nmol/mL). This increase was statistically significant (by 20.1%,  $p < 0.05$ ). The incubation of erythrocyte suspensions with extracts derived from stalks of CM collected from urban agglomerations resulted in a statistically significant increase (by 19.9%,  $p < 0.05$ ) in the levels of aldehydic derivatives of OMP ( $17.60 \pm 1.26$  nmol/mL) compared to untreated samples ( $14.68 \pm 0.40$  nmol/mL). The lowest levels of aldehydic derivatives of OMP were observed after incubation of erythrocyte suspensions with extracts derived from stalks of CM collected from rural areas ( $16.09 \pm 0.73$  nmol/mL), where there was a 9.6% increase in levels of aldehydic derivatives of OMP ( $p > 0.05$ ) compared to the untreated samples ( $14.68 \pm 0.40$  nmol/mL).

A statistically significant elevation in the level of ketonic derivatives of oxidatively modified proteins after *in vitro* incubation with extracts derived from both stalks ( $21.73 \pm 1.03$  nmol/mL) and roots ( $18.26 \pm 3.56$  nmol/mL) of CM collected from rural areas of Pomeranian region compared to the control samples ( $19.26 \pm 0.50$  nmol/mL) was observed. There was an increase in ketonic derivatives of oxidatively modified proteins by 12.8% ( $p < 0.05$ ) for extracts derived from stalks. A very similar value in the level of ketonic derivatives of OMP was obtained after incubation of blood samples with extracts derived from stalks of CM collected in urban areas ( $22.33 \pm 2.02$  nmol/mL) compared to the control samples. Similar results were obtained after incubation of blood samples with extracts derived from roots ( $23.16 \pm 1.11$  nmol/mL) of CM collected from urban areas, where we recorded statistically significant elevation by 20.3% ( $p < 0.05$ ).

In summary, our studies revealed that extracts derived from roots and stalks of CM collected from urban areas increase the oxidation of proteins, which may explain the pro-oxidative effect of this dose of extracts. On the other hand, extracts derived from roots and stalks of CM collected from rural areas resulted in a non-significant increase in levels of aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins. CM may have antioxidant properties, but further studies are needed to search the therapeutic dose and other applications in medicine and the pharmaceutical industry.



**Tsupko N.**

THE ACTIVE INGREDIENT OF ROUNDUP HERBICIDE GLYPHOSATE  
AND IT'S EFFECT ON THE BRAIN AND LIVER OF *CYPRINUS CARPIO* L.

*Chernihiv Collegium National University n. a. T.G. Shevchenko*

*Hetmana Polubotka St., 53, Chernihiv, 14000, Ukraine*

*e-mail: Adzhedan18@gmail.com*

To increase the yield of agricultural products, various chemical substances are used, among them plant growth biostimulators, herbicides and others. Most herbicides spread beyond the boundaries of cultivated areas and circulate in the biosphere for a long time. Glyphosate-based herbicides are widely used to control weeds not only in agriculture (Education in Chemistry, 2005).

Glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) was synthesized during World War II as a nerve agent. In small concentrations, it provides herbicidal properties, which are due to the deactivation of 3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid of plants, disruption of the synthesis of aromatic amino acids phenylalanine, tyrosine, and tryptophan (Nedopytanska, 2011).

The purpose of the study was investigate the combined effect of herbicides containing the active substance glyphosate (Roundup) on the content of total protein in the body of carp fish. The scaly carp was chosen as the research object. During the experiment, it was found that when toxicants with the active substance glyphosate (Roundup) and zinc salts are added to the aquarium, the combined effect of these toxicants on the brain and liver of scaly carp differs significantly to the control group.

The protein content was determined by the Lowry method using photometric equipment at 540 nm wave length. Probable difference between mean arithmetic values was determined using Student's t-test. Differences between the compared groups were considered probable at  $p < 0.05$ .

With the combined effect of roundup +  $Zn^{2+}$ , the total content of proteins decreases, which is associated with their use as energy substrates and participation in the formation of adaptive structures. It was confirmed by the dynamics of their content and the change in the ratio of individual fractions depending on the chemical structure of the herbicide: roundup reduces the protein content in the insoluble fraction and increases the proportion of water-soluble proteins, especially in the white muscles and liver of fish.

Thus, comparing the toxic effect of the active substance glyphosate (Roundup) on the brain and liver tissues of scaly carp we shown a decrease in total protein in salt-soluble, an increase in water-soluble and a decrease in the concentration of insoluble proteins under the influence of Roundup.

## БОТАНІКА ТА ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН BOTANY AND PLANTS INTRODUCTION

**Андрейчук Р., Одінцова А.**

ОСОБЛИВОСТІ РОЗКРИВАННЯ ПЛОДУ В *CAMPANULA ALPINA* JACQ.

Львівський національний університет імені Івана Франка

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

e-mail: roksolanaandreychuk01@gmail.com

**Andreychuk R., Odintsova A.** THE PATTERN OF FRUIT DEHISCENCE IN *CAMPANULA ALPINA* JACQ. It was revealed that dehiscence of the capsule in *Campanula alpina* proceeds through three crescent slits which are located interlocularly, at the base of the fruit, beneath sepals. Slits are formed by the axicorns which are the lignified parts of the ovary septas. Such a pattern is characteristic of the other *Campanula* species with pendent fruits. Most of the ovary is free of the calyx. It is the first finding of the deviation from the inferior ovary in *Campanula*.

Для більшості представників родини *Campanulaceae* характерна нижня зав'язь та коробчасті плоди з різноманітними способами розкривання (Lammers, 2007). Нижні плоди – коробочки є характерною ознакою представників триби *Campanuleae* підродини *Campanuloideae*, проте в роді *Campanula* виявлено різні варіанти розміщення отворів та здерев'янілих тяжів у перегородках плоду.

Дзвоники альпійські (*Campanula alpina* Jacq.) – високогірна трав'яна рослина, поширена в альпійському поясі Карпат, Східних Альп та Балкан. Відомо, що для *C. alpina* характерні кулясті та оберненояйцеподібні пониклі плоди, які розкриваються отворами при основі або поблизу середини плоду (Дремлюга, 2013), але немає даних про анатомічні особливості оплодня, які забезпечують розкривання плоду. Метою нашої роботи було з'ясувати механізм розкривання плоду *C. alpina*. Збір плодів проводили 5 липня 2018 року у популяції поблизу вершини гори Петрос Рахівського району Закарпатської області. Плоди на різних стадіях розвитку фіксували у 70% етанолі, препарати плодів вивчали за допомогою світлового мікроскопа.

Встановлено, що в дослідженому матеріалі коробочка в обрисах куляста, 1 см в діаметрі, поникаюча. Чашолистків п'ять-шість, вони довгі, ланцетні, при плоді зберігаються, направлені вгору. Придатки чашечки також зберігаються, направлені донизу. Зав'язь на стадії цвітіння і плодоношення лише дещо приросла до основи чашечки, тобто є майже повністю верхньою. В міру дозрівання плоду віночок разом з тичинками та стовпчиком скручуються, всихаються і довший час залишаються при плоді.

У достиглому плоді в підчашолистковій частині зав'язі на радіусах її перегородок розміщені три (іноді чотири) округлі клапанні отвори, які опиняються зверху завдяки пониканню коробочки. Півмісяцева щілина, яка відділяє клапан від стінки плоду *C. alpina*, формується так само, як і в поникаючих плодах *Campanula latifolia* L. і *Adenophora liliifolia* (L.) A. DC (Andreychuk, Odintsova, 2019; 2021).

Коробочка *C. alpina* містить три (іноді чотири) гнізда, які в перерізі округлі. Гнізда розділені тонкими перегородками. В центрі плоду наявна циліндрична центральна колонка, яка об'єднує перегородки. В кожному гнізді зав'язі, у його верхній частині, наявна невелика дволопатева плацента з численними (близько 60) насінинами. Здерев'янілі тяжі (аксикорни), які беруть участь у розкриванні плоду, простягаються від верхівок плацент до основи плоду, де розміщені щілини

розкривання. Таким чином, аксикорни простягаються майже через цілий плід. Кріпляться вони лише до центральної колонки. В результаті дослідження було виявлено, що розміщення отворів в оплодні *C. alpina* таке ж, як в інших видів роду *Campanula* та триби Campanuleae, які мають пониклі плоди, проте довжина аксикорнів та положення зав'язі відрізняються. Вперше було встановлено майже верхнє положення зав'язі *C. alpina*, що потребує подальшої еволюційно-морфологічної інтерпретації.

**Ачкасов Д.**

**НОВІ ВІДОМОСТІ ПРО АФІЛОФОРОЇДНІ ГРИБИ  
ПРИРОДНОГО ЗАПОВІДНИКА «РОЗТОЧЧЯ» (ЛЬВІВСЬКА ОБЛ.)**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

*майдан Свободи, 4, м. Харків, 61000, Україна*

*e-mail: danil.achkasov15@gmail.com*

**Achkasov D.** NEW DATA ABOUT APHYLLOPHOROID FUNGI FROM ROZTOCHIA NATURE RESERVE (LVIV REGION, UKRAINE). Information about 28 species of aphylloroid fungi, collected on the territory of Roztochia reserve in October 2019 is presented. The identification of some specimens was carried out using the analysis of the sequences of the DNA ITS region. *Postia ptychogaster* is a rare species and this is the second find in Ukraine.

Природний заповідник «Розточчя» розташований у Яворівському р-ні Львівської обл. і має площу понад 2 тис. га. Це єдиний в Україні заповідник, який знаходиться в межах Головного європейського вододілу, що зумовлює багатство його флори, фауни і мікобіоти. Букові праліси заповідника мають статус Всесвітньої спадщини під егідою ЮНЕСКО.

Афілофороїдні гриби – життєва форма базидієвих макроміцетів, що характеризується формуванням різноманітних за будовою гіменокарпних плодових тіл зі щільною структурою, непластинчатим типом гіменофору та гомологобазидіями. Більшість видів афілофороїдних грибів є ксилотрофами. Оскільки значна частина території заповідника вкрита лісами, слід очікувати в ньому на значне різноманіття ксилотрофів. Представлена робота ґрунтується на опрацюванні гербарних зразків, що були зібрані в заповіднику 29-30 жовтня 2019 р. доцентом кафедри мікології та фітоімунології ХНУ імені В.Н. Каразіна О. Ю. Акуловим. Для ідентифікації зразків використовували світлову мікроскопію, а для деяких – методи молекулярно-генетичного аналізу, а саме послідовностей нуклеотидів ITS-регіону ДНК.

В результаті проведених досліджень нами було ідентифіковано 28 видів афілофороїдних грибів. З буком асоційовані види *Antrodia albida* (Fr.) Donk, *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst., *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schröt., *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Hyphoderma setigerum* (Fr.) Donk, *Hyphodontia barba-jovis* (Bull.) J. Erikss., *Mensularia nodulosa* (Fr.) T. Wagner & M. Fisch., *Peniophora cinerea* (Pers.) Cooke, *Polyporus brumalis* (Pers.) Fr., *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd та *Xylodon cystidiatus* (A. David & Rajchenb.) Riebesehl & Langer; з сосною – *Athelia salicum* Pers., *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref., *Peniophorella praetermissa* (P. Karst.) K.H. Larss., *Postia ptychogaster* (F. Ludw.) Vesterh., *Tomentella lateritia* Pat., з дубом – *Cylindrobasidium evolvens* (Fr.) Jülich, *Hymenochaete rubiginosa* (Dicks.) Lév., *Peniophora quercina* (Pers.) Cooke, *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers., з осикою – *Hyphoderma litschaueri* (Burt) J. Erikss. & Å. Strid, *Trametes suaveolens* (L.) Fr., з кленом

– *Dendrothele alliacea* (Quél.) P.A. Lemke, з березою – *Fomitopsis betulina* (Bull.) B.K. Cui, M. L. Han & Y.C. Dai, з вербою – *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev & Singer, з вільхою – *Inonotus radiatus* (Sowerby) P. Karst., з ліщиною – *Vuilleminia coryli* Boidin, Lanq. & Gilles. На гіменофорі трутовика *Fomes fomentarius* був виявлений кортиціоїд *Athelia epihylla* Pers.

### Волкотруб К.

РЕПРОДУКТИВНІ ПОКАЗНИКИ *HYDRANGEA MACROPHYLLA* “MASJA” ТА *HYDRANGEA ARBORESCENS* “GRANDIFLORA” З КОЛЕКЦІЇ БОТАНІЧНОГО САДУ ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Львівський національний університет імені Івана Франка

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

e-mail: ksenia.volkotrub@gmail.com

**Volkotrub K.** REPRODUCTIVE PARAMETERS OF *HYDRANGEA MACROPHYLLA* “MASJA” AND *HYDRANGEA ARBORESCENS* “GRANDIFLORA” ON THE COLLECTION OF IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV BOTANICAL GARDEN. The flower of *Hydrangea macrophylla* “Masja” has 8 stamens, an average of 2470 pollen grains in each anther and an average of 118.5 ovules in the ovary. The flower of *Hydrangea arborescens* “Grandiflora” has 10 stamens, with an average of 1008 pollen grains in each anther, and an average of 54 ovules in the ovary. The P/O index in both species is low: 167 for the *Hydrangea macrophylla* “Masja” and 185 *Hydrangea arborescens* “Grandiflora”, which is typical for self-pollinated species.

Рід *Hydrangea* Gronov. ex L. охоплює 35 видів, поширених в Північній і Південній Америці та Південно-Східній Азії (Аксенова, 2000). Квітки зібрані у кулясті верхівкові суцвіття щиток або волоть. У центрі такого суцвіття зазвичай розміщені дрібні плідні квітки, а на периферії – великі стерильні квітки з чотирма забарвленими чашолистками, які нагадують пелюстки. В колекції Ботанічного саду ЛНУ ім. І. Франка налічується близько 20 таксонів гортензії (Щерба, 2017). Вивчення репродуктивних показників є важливим етапом досліджень інтродукованих видів. Декоративно-квітучі рослини, зокрема сорти і гібриди, в культурі розмножують переважно вегетативним способом. Для можливості насінневого розмноження культурних рослин важливо знати, наскільки сорт, який виник в результаті селекції, здатний продукувати фертильні чоловічі і жіночі гаметофіти. Метою нашої роботи було обчислення основних показників репродуктивної сфери у двох сортів роду *Hydrangea*. Дослідження проводили на матеріалах, зібраних у Ботанічному саду ЛНУ ім. І. Франка. Кількість пилкових зерен і насінних зачатків у квітці вивчали на тимчасових препаратах під світловим мікроскопом (Паушева и др., 1988).

Встановлено, що у *Hydrangea macrophylla* “Masja” андроцей складається з 8 тичинок. В пиляку міститься в середньому 2470 пилкових зерен (від 1893 до 3306). Кількість пилкових зерен, які продукує одна квітка, становить в середньому 19760. Фертильні пилкові зерна сферичної або овальної форми, дрібні. Зав'язь тригнізна, кількість насінних зачатків в зав'язі в середньому становить 118.5 (від 101 до 139). У *Hydrangea arborescens* “Grandiflora” андроцей складається з 10 тичинок. Пилкові зерна сферичної форми, дрібні. В пиляку в середньому міститься 1008 пилкових зерен (від 744 до 1368), а в одній квітці, відповідно – 10008. Зав'язь дво-тригнізна, кількість насінних зачатків у зав'язі становить в середньому 54 (від 45 до 67). Таким чином, у пиляках *Hydrangea arborescens* “Grandiflora” міститься вдвічі менше

пилкових зерен, а у зав’язі вдвічі менше насінних зачатків, ніж у *Hydrangea macrophylla* “Masja”, проте більша кількість тичинок у першого сорту дещо компенсує загальне низьке число пилкових зерен у квітці.

Отримані нами дані дали змогу обрахувати показник P/O – відношення кількості пилкових зерен і насінних зачатків, які продукуються однією квіткою. P/O показник є індикатором ефективності транспорту пилку і відображає тип репродуктивної системи виду та спосіб запилення (Cruden, 1977). P/O показник за середніми значеннями кількості пилкових зерен у пиляках та кількості насінних зачатків у зав’язі однієї квітки, в обох сортів є низьким і становить 167 для *Hydrangea macrophylla* “Masja” та 185 для *Hydrangea arborescens* “Grandiflora”. Отже, досліджені сорти гортензії за даними P/O показника можна вважати факультативно автогамними рослинами, що не узгоджується з ентомофільним габітусом їхніх квіток та суцвіть.

### Грінченко С.

#### ЗАКОНОМІРНОСТІ КОНТАМІНАЦІЇ СУХИХ КОРМІВ ДЛЯ КОТІВ МІКРОСКОПІЧНИМИ ГРИБАМИ

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
e-mail: strutswan@gmail.com

**Hrinchenko S.** THE PATTERNS OF DRY CAT FOOD CONTAMINATION BY MICROSCOPIC FUNGI. As a result of the study of 23 samples of dry fodder, 41 pure cultures of microscopic contaminating fungi were isolated. Molecular-genetic analysis was used for their identification. In total 23 species were identified, of which 8 are representatives of the genus *Aspergillus*, 5 – *Penicillium*, 3 – *Fusarium*, 2 – *Mucor*, 1 each – *Alternaria*, *Litchtheimia*, *Talaromyces*, *Trichothecium* and *Stemphylium*. Most often, there were species *Aspergillus flavus*, *Fusarium sporotrichoides*, *A. parasiticus*, *A. terreus*, *A. niger*, *F. verticillioides* and *Trichothecium roseum*. Many of the registered species are mycotoxin producers.

Для харчування домашніх котів в усьому світі широко використовуються сухі корми. Ринок кормів для домашніх тварин у 2021 р. сягнув 99 мільярдів доларів США. При цьому приблизно третину ринку формували котячі корми, а на сухі припадало більше ніж половина з них.

В Україні представлено багато торгівельних марок сухих кормів, які різняться за складом, поживною цінністю, технологіями виготовлення і ціною. За даними літератури, навіть дуже якісні корми при порушенні умов транспортування і зберігання можуть контамінуватися пліснявими грибами. Серед пліснявих грибів є чимало продуцентів мікотоксинів, тому вживання заселених цими грибами кормів може загрожувати здоров’ю, а іноді навіть життя домашніх улюбленців. Найбільші ризики трапляються коли була порушена герметична заводська упаковка, а потім корм зберігався в умовах підвищеної вологості повітря. Ситуації, коли великий мішок з сухим кормом був розпакований, а потім протягом кількох місяців реалізовувався в умовах неконтрольованої вологості та антисанітарії, нажаль, можна спостерігати доволі часто.

Для проведення досліджень нами були відібрані 23 зразки сухих кормів різних торгівельних марок. З цих зразків було виділено 41 чисту культуру мікроскопічних грибів. Для того, аби впевнено ідентифікувати культури до видового рівня, ми не

обмежилися морфолого-культуральними дослідженнями і мікроскопією, а застосували методи молекулярно-генетичного аналізу, а саме аналіз послідовностей нуклеотидів в генах, що кодують малу та велику субодиниці рибосомальної ДНК (ITS та LSU).

В результаті проведених досліджень було визначено 23 види мікроскопічних грибів з яких 8 є представниками роду *Aspergillus*, 5 – *Penicillium*, 3 – *Fusarium*, 2 – *Mucor*, по 1 – *Alternaria*, *Litchtheimia*, *Talaromyces*, *Trichothecium* та *Stemphylium*.

Найбільш поширеним контамінантом кормів був гриб *Aspergillus fumigatus*, який виділився із 6 зразків кормів. З 4 зразків кормів виділилися гриби *Aspergillus flavus* та *Fusarium sporotrichoides*, з 3 – *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus terreus*, з 2 – *Aspergillus niger*, *Fusarium verticillioides* та *Trichothecium roseum*. Лише з одного зразка корму виділялися види *Alternaria alternata*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium proliferatum*, *Mucor circinelloides*, *Mucor racemosus*, *Litchtheimia corymbifera*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium chrisogenum*, *Penicillium javanicum*, *Penicillium rubens*, *Penicillium* sect. *Divaricata*, *Stemphylium vesicarium* та *Talaromyces purpureogenus*.

Серед зареєстрованих видів чимало є продуцентами мікотоксинів, таким чином підтверджено потенційну небезпеку вживання контамінованих кормів домашніми котами.

### **Заболотня А.**

ПЕРША ЗНАХІДКА ФІТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *DIAPORTHE CAULIVORA* (ATHOW & CALDWELL) J. M. SANTOS, VRANDEČIĆ & A. J. L. PHILLIPS В УКРАЇНІ

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*  
*Майдан Свободи, 4, Харків, Харківська область, 61000, Україна*  
*e-mail: epictyn@gmail.com*

**Zabolotnia A.** FIRST REPORT OF PLANT PATHOGENIC FUNGUS *DIAPORTHE CAULIVORA* (ATHOW & CALDWELL) J. M. SANTOS, VRANDEČIĆ & A. J. L. PHILLIPS IN UKRAINE. As a result of the analysis of nucleotides sequences of the ITS and LSU genes, sterile pure cultures isolated from diseased soybean seeds were identified as *Diaporthe caulivora* (Athow & Caldwell) J. M. Santos, Vrandečić & A. J. L. Phillips. This species, which is the causative agent of a dangerous soybean disease Northern stem canker, was registered in Ukraine for the first time.

Соя культурна (*Glycine max* Moench.) є однією з основних сільськогосподарських культур, що вирощуються в Україні. За даними FAO країна входить до першої десяткисвітових виробників сої. Насиченість сівозмін соєю зумовлює інтенсивний розвиток інфекційних хвороб, які можуть призводити до значних втрат кількісних і якісних показників врожайності. До числа найбільш шкідливих хвороб сої належать фомопсидози. Це група хвороб, що викликається сумчастими гриба з роду *Diaporthe* (анаморфа *Phomopsis* spp.). Основними проявами фомопсидозів сої є стебловий рак, плямистість листків і хвороби насіння. Втрати врожаю в окремі роки можуть сягати 60-100%.

В Європі відомі п'ять видів збудників фомопсидозів сої: *Diaporthe aspalathi* (= *D. phaseolorum* var. *meridionalis*), *D. longicolla*, *D. novem*, *D. phaseolorum*, (= *D. phaseolorum* var. *sojae*) та *D. caulivora* (= *D. phaseolorum* var. *caulivora*). Останній є доволі поширеним у Північній та Південній Америці, але в Європі дотепер був

відомий лише з території колишньої Югославії. В країнах Азії також поширений вид *D. sojae*.

Під час дослідження насінневої інфекції сої з різних регіонів України, нами було виділено низку чистих культур грибів, які неможливо було ідентифікувати за допомогою мікроскопії. До їх числа належав гриб із стерильними молочно-білими шкірястими колоніями з темним центром та реверзумом, який мав високу швидкість росту на поживному середовищі СҮА. Подібні колонії доволі часто виділялися з насіння сорту Абеліна врожаю 2021 р., вирощеного на території Львівської області. Для ідентифікації культур нами було використано молекулярно-генетичний метод дослідження, а саме аналіз послідовностей нуклеотидів в генах ITS та LSU, що кодують малу та велику субодиниці рибосомальної РНК. Виділення, ампліфікацію та електрофорез ДНК проводили на базі кафедри мікології та фітоімунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, а секвенування здійснювали на комерційній основі в компанії «Macrogen» (Нідерланди).

Аналіз отриманих послідовностей з використанням відкритої бази даних NCBI Nucleotide Database дозволив нам ідентифікувати культури як *Diaporthe caulivora* (Athow & Caldwell) J .M. Santos, Vrandečić & A. J. L. Phillips. Слід зауважити, що цей вид був неотипіфікований і переописаний у 2011 р. на основі культур з Хорватії. За даними літератури, *D. caulivora* є одним з найбільш небезпечних збудників раку стебла сої (SSC). Для найменування хвороби, що він викликає, використовують назву «Північний рак стебел» (Northern stem canker). Відомі рослини-господарі: *Abutilon theophrasti*, *Dipsacus lacinatus* та *Glycine max*. На території України вид зареєстровано вперше.

Ізоляти *Diaporthe caulivora* з України зберігаються в колекції чистих культур кафедри мікології та фітоімунології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна і будуть використані для подальших досліджень, зокрема визначення чутливості до сучасних фунгіцидних препаратів.

### Згонник М.

ПЕРШІ ЗНАХІДКИ РІДКІСНИХ ГРИБІВ *HERICIUM ALPESTRE* PERS. ТА *H. CORALLOIDES*(SCOP.) PERS. З НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ «СИНЬОГОРА» (УКРАЇНСЬКІ КАРПАТИ)

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
майдан Свободи 4, м. Харків 61022, Україна  
e-mail: m.zghonnyk@gmail.com

Zghonnyk M. FIRST FINDS OF THE RARE FUNGI *HERICIUM ALPESTRE* PERS. AND *H. CORALLOIDES* (SCOP.) PERS. FROM THE NATIONAL NATURE PARK "SYNYOHORA" (UKRAINIAN CARPATHIANS). Information about records of two rare fungal species: *Hericium alpestre* and *H. coralloides* from the territory of the Carpathian Mountains (Ivano-Frankivsk region of Ukraine) is given. Substrate specialization, distribution, and sociological status of both species are analysed. The proposal to include *Hericium alpestre* in the next edition of the Red List of Ukraine has been expressed.

*Hericium* Pers. – невеликий рід ксилотрофних базидієвих макроміцетів з дуже характерним розгалуженням їх плодових тіл і шипастим гіменофором. Представники роду розвиваються на деревині старих, переважно мертвих, дерев і використовуються як індикатори природних старовікових лісів. Види роду є доволі рідкісними в Європі і

тому внесені до Червоних списків низки країн. В Україні зареєстровані три види роду: *Hericium alpestre* Pers., *H. coralloides* (Scop.) Pers. та *H. erinaceus* (Bull.) Pers.

*Hericium coralloides* – типовий представник роду. Це реліктовий вид, внесений до Червоної книги України із статусом “вразливий”. В більшості країн Європи він має статус “зникаючий” (EN) та “вразливий” (VU). *H. coralloides* трапляється у старих лісах. Основним його субстратом є деревина бука, але також він був виявлений на інших листяних видах дерев, зокрема на деревині берези, верби, дуба, клену, тополі та ясеня. Найбільша кількість знахідок гриба припадає на країни Північної Півкулі. За даними бази даних GBIF цей вид є найпоширенішим і представлений в світі майже 11 тисяч знахідок.

*Hericium alpestre* Pers. за макроскопічними ознаками є схожим на попередній, але трапляється лише на мертвій деревині хвойних дерев, здебільшого на *Abies alba* Mill. Ареал виду значною мірою співпадає із поширенням ялиці звичайної в гірських лісах Європи. Цей вид трапляється доволі нечасто і за даними GBIF представлений в світі лише 139 записами. Вид занесений до Червоних списків Австрії із статусом “зникаючий” (EN), Польщі, як такий що знаходиться “у критичній небезпеці” (CR), Хорватії – “вразливий” (VU), Чехії – “майже під загрозою” (NT). В Україні дотепер вид був представлений лише трьома знахідками. Враховуючи на це, на нашу думку, *H. alpestre* також варто занести до Червоної книги України.

Національний природний парк “Синьогора” розташований в Івано-Франківській області України. Дотепер його територія лишається абсолютно недослідженою мікологами. Так, монографія “Гриби заповідників та національних природних парків Українських Карпат” (2019 рік видання) не містить жодного запису про гриби НПП “Синьогора”. Враховуючи це, вивчення мікобіоти парку є дуже актуальним.

У серпні 2022 р. під час відвідування національного парку “Синьогора” нами було виявлено плодові тіла обох перелічених вище видів роду *Hericium*. *H. coralloides* розвивався на мертвому поваленому стовбурі явора (*Acer pseudoplatanus* L.), а *Hericium alpestre* на великому повалену стовбурі ялиці (*Abies alba* Mill.). Наявність цих видів на території парку свідчить, що НПП “Синьогора” є важливою складовою природно-заповідного фонду України і заслуговує більшої уваги мікологів.

**Кашуба Х.<sup>1,2</sup>, Стасюк О.<sup>2</sup>, Гончаренко В.<sup>3</sup>**

**ФЛОРА ПОРОДНИХ ВІДВАЛІВ ШАХТИ «МЕЖИРІЧАНСЬКА»  
ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ**

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені  
С. З. Гжицького<sup>1</sup>, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна*

*Сокальська Мала академія наук учнівської молоді імені Ігоря Богачевського<sup>2</sup>  
вул. Шептицького, 90, м. Сокаль, Червоноградський р-н, Львівська обл., 80000,  
Україна*

*Львівський національний університет імені Івана Франка<sup>3</sup>  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

*e-mail: vherbarium@ukr.net*

**Kashuba Kh., Stasiuk O., Honcharenko V. FLORA OF ROCK DUMPS OF THE MINE "MEZHRYCHANSKA" OF CHERVONOHRA D MINING DISTRICT. The species diversity of the flora of the mine "Mezhyrichanska" dumps was studied. 68 species from 61 genera and 34 families were identified. The most common species are: *Betula***



*pendula L., Stellaria holostea L., Chenopodium album L., Pinus sylvestris L., Populus tremula L., Urtica dioica L., Salix carpea L.*

На території Львівсько-Волинського вугільного басейну нараховується 55 териконів шахт і збагачувальних фабрик, з них 26 відносять до горючих (Мовчан, 2011). Рослинність породних відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району формується залежно від фізико-хімічних властивостей сумішей гірських порід териконів, мікрокліматичних особливостей місцевості їх розташування та ступеня деструкції девастрованого ландшафту (Геник, Стасюк, 2010; Мовчан, 2011). Вивчення фітоценотичної різноманітності териконів є необхідним для дослідження сукцесійної динаміки рослинності, визначення потенційної можливості природного відновлення рослинності відвалів.

Сучасний рослинний покрив виник у результаті саморозростання і має фрагментарний характер. Розвиток рослинного покриву відбувається нерівномірно. На оголених субстратах териконів природним шляхом формуються трав'янисті, деревно-чагарникові угруповання. І тепер їх схили, особливо з північної сторони, вкриті березово - сосновими заростями. Найважливішим показником будь-якої флори є її багатство, рівень якого визначається кількістю видів, родів, родин. На досліджуваній території териконів шахти «Межирічанська» у 2012 році виявлено 42 види рослин із 20 родин, 36 родів. Для показників систематичної різноманітності належать також флористичні пропорції – відношення кількості родин до кількості родів та видів. Для вивчених угруповань вони становлять 1:1,8:2,1 (терикон №1), 1:1.85:2 (терикон №2), 1:1,2:1,2 (терикон №3).

Аналогічні дослідження проводились протягом 2020 року. В результаті якого було виявлено збільшення видового різноманіття рослинного покриву породних відвалів. Флора представлена 51 видом, які відносяться до 45 родів, 25 родин, флористична пропорція становить 1:1,13:2,04. Станом на червень 2021 року видове різноманіття рослинного покриву становить 68 видів з 61 роду та 34 родин. Відношення кількості родин до кількості родів та видів-флористична пропорція- становлять 1:1,8:2,04 (терикон №1), 1:1.75:1.95 (терикон №2), 1:1:1 (терикон №3).

У флористичному складі домінують представники родини Asteraceae, Poaceae, Rosaceae, решта родин представлені одним – трьома видами. Найбільш поширеними видами є: *Betula pendula L., Stellaria holostea L., Chenopodium album L., Pinus sylvestris L., Populus tremula L., Urtica dioica L., Salix carpea L.* Висока різноманітність пояснюється тим, що терикони оточені дачними ділянками, городами селян. Дачники і жителі села викидають сміття у підніжжя відвалів разом із насінням, спричиняють поширенню рослин. Найбільш різноманітний за видовим складом терикон №1 – 64/51/42 вид, терикон №2 – 47/31/28 видів, терикон №3 – насипання якого почалось порівняно недавно – 6 видів.

**Майсак В., Чуйкова М.**

**ЗНАХІДКА ГРИБА *DIAPORTHE NOBILIS* SACC. & SPEG. НА ГІЛКАХ В'ЯЗА З  
УКРАЇНИ**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
e-mail: epictyn@gmail.com*

**Maysak V., Chuykova M. THE FIND OF FUNGUS *DIAPORTHE NOBILIS* SACC.  
& SPEG. ON ELM BRANCHES FROM UKRAINE. As a result of the analysis of**

nucleotides sequences of the ITS and LSU genes, sterile pure culture isolated from recently dead branches of *Ulmus sp.* (Izium district, Kharkiv region, Ukraine) were identified by us as *Diaporthe nobilis* Sacc. & Speg.

*Diaporthe* Fuckel – величезний за кількістю описаних видів рід сумчастих грибів. Переважна більшість його представників асоційована з рослинами і є фітопатогенами, ендотрофами або сапротрофами на рослинних рештках. Нестатеве спороношення представників роду протягом тривалого часу мало окрему назву *Phomopsis* (Sacc.) Bubák.

Для розпізнавання видів роду традиційно використовували два критерії – морфологічні особливості зразку і субстратна спеціалізація. Але такий підхід неминуче призводив до невизначеності. Чи є морфологічно-подібні зразки з різних рослин одним біологічним видом-поліфагом, чи це окремі види? Чи є морфологічно-відмінні зразки з одного виду рослини різними видами або ж це прояв поліморфізму? Номенклатурні бази даних містять інформацію про 984 назви *Phomopsis* та 1176 назв *Diaporthe*, але з'ясувати статус цих назв можливо лише за допомогою молекулярно-генетичного аналізу.

*Diaporthe nobilis* Sacc. & Speg. був описаний ще 1878 р. на гілках лавра (*Laurus nobilis* L.) з Італії. Нестатеве спороношення гриба у 1906 р. отримало назву *Phomopsis laurella* (Sacc.) Traverso. З часом, цей вид було виявлено на низці інших субстратотвірних рослин, зокрема винограді, в'язі, гранаті, камелії, каштані, ківі, лохині, плющі, рододендроні та яблуні, і навіть сосни і ялиці, що було підтверджено послідовностями нуклеотидів ITS-регіону рибосомальної ДНК. На типовому субстраті – лаврі вид відомий з Великої Британії, Італії, Німеччини, Росії (Краснодарський Край), Шотландії та України (Південний берег Криму). Але з урахуванням інших субстратів, переважна більшість знахідок *D. nobilis* припадає на країни Південно-Східної Азії (Китай, Корея, Японія), а значно менше їх з території США та країн Європи.

Для ідентифікації *Diaporthe / Phomopsis spp.* традиційно використовували маркерний ген ITS, але з часом стало зрозуміло, що часто він дозволяє визначити приналежність зразку лише до певної кладі (групи видів), а для більш точної ідентифікації потрібно проводити мультигенний аналіз із залученням генів TEF1, TUB, HIS та CAL. Певною мірою це стосується і видів *Diaporthe nobilis species complex*. Дослідники роду (Gomes et. al., 2013) припускають, що насправді це група споріднених видів, але це питання потребує подальшого вивчення.

Під час відвідування території регіонального ландшафтного парку «Ізюмська Лука» (околиці с. Придонецьке, Ізюмський р-н, Харківська обл.) у серпні 2021 р. доцентом О. Ю. Акуловим було зібрано зразки фітотрофних грибів в ідентифікації яких ми брали участь. Для визначення чистої культури гриба, що була виділена з нещодавно відмерлих гілок *Ulmus sp.* (зразок CWU (Myc) AS 8279), ми задіяли молекулярно-генетичний аналіз, а саме аналіз послідовностей нуклеотидів в генах ITS та LSU, що кодують малу та велику субодиниці рибосомальної РНК. Виділення, ампліфікацію та електрофорез ДНК проводили на базі кафедри мікології та фітоімунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, а секвенування здійснювали на комерційній основі в компанії «Macrogen» (Нідерланди). Аналіз отриманих послідовностей з використанням відкритої бази даних NCBI Nucleotide Database дозволив нам ідентифікувати цю культуру як *Diaporthe nobilis*. Дотепер в світі була відома лише одна культура цього гриба з гілок в'язу з Кореї.

**Новгородський А., Бондаренко М.**

**ПЕРША ЗНАХІДКА ФІТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *DOTHISTROMA PINIHULBARY*  
З ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНСЬКОГО ПОДІЛЛЯ**

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

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

*e-mail: andreynovgorodsky@gmail.com, dimasiy01@gmail.com*

**Novgorodsky A., Bondarenko M.** FIRST REPORT ABOUT PLANT PATHOGENIC FUNGUS *DOTHISTROMA PINIHULBARY* FROM THE TERRITORY OF THE UKRAINIAN PODILIA. *Dothistroma pini* is a dangerous invasive parasite of *Pinus nigra* registered for the first time in the Ternopil region of Ukraine. Brief information about the history of the species registration on the Eurasian continent and its distribution in Europe is provided.

Дотістроматоз або червона смугастість хвої сосни належить до числа найбільш небезпечних грибних хвороб, що розвиваються на *Pinus spp.* Він викликає передчасне відмирання і осипання хвої і зумовлює значне ослаблення, а іноді навіть гибель дерев. Збудниками хвороби є два споріднених види сумчастих грибів з родини Mucosphaerellaceae класу Dothideomycetes, які різняться за спектром уражуваних рослин в межах роду *Pinus* та географічним поширенням.

Вид *Dothistroma septosporum* (Dorog.) M. Morelet під назвою *Cytosporina septospora* Dorog. був вперше описаний на сосні звичайній (*Pinus sylvestris* L.) у 1911 р. Г. Дорогіним з околиць Києва. Зараз відомо, що він здатен уражувати різні види сосни у різних регіонах Земної Кулі. Вид *Dothistroma pini* Hulbary був описаний на сосні чорній (*Pinus nigra* J. F. Arnold) у 1941 р. з території США. Цей вид є значно більш спеціалізованим і донедавна був поширеним лише на території Американського континенту.

У 2004 р. А. С. Усіченко та О. Ю. Акулов, співробітники кафедри мікології та фітоімунології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, зареєстрували масове ураження насаджень сосни кримської (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) на території Миколаївської та Херсонської областей, а також АР Крим. Гриб-збудник попередньо був ідентифікований як *D. septosporum*, але генетичний аналіз показав, що насправді це американський вид. У 2007 р. в журналі "Forest Pathology" вийшла стаття, де було оприлюднено знахідку нового для Євразійського континенту небезпечного карантинного збудника сосни *Dothistroma pini*.

Починаючи з 2008 р., окрім України, цей фітопатоген був знайдений у багатьох країнах Причорномор'я та Середземномор'я: Італії, Іспанії, Кіпрі, Словаччині, Росії (Краснодарський Край), Румунії, Туреччині, Угорщині, Чехії, Словенії, Франції та ін. Через швидке розповсюдження та негативні наслідки, що спричинює цей фітопатоген, був створений міжнародний проект для його дослідження та моніторингу COST FP 1102 «Determining Invasiveness and Risk of *Dothistroma*» (скорочена назва DIAROD). Проте, слід зазначити, що з кожним роком осередок розвитку хвороби продовжує розростатися.

Наприкінці травня 2022 р. новий осередок розвитку *D. pini* у насажденні *Pinus nigra* був виявлений на території Українського Поділля. Хворобою були масово уражені дерева на території Ботанічної пам'ятки природи "Сосна чорна Тербовлянська" (м. Тербовля, Тернопільська обл.). Отримані дані демонструють,

що хвороба прогресує на території України і вже не є обмеженою приморськими регіонами країни.

**Островський Р., Гончаренко В.**

**ЗНАХІДКА *PHYTOLACCA ACINOSAROXB.* НА ТЕРИТОРІЇ РІВНЕНСЬКОЇ  
ОБЛАСТІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: vherbarium@ukr.net*

**Ostrovskiy R., Honcharenko V. FINDING *PHYTOLACCA ACINOSA* ROXB. ON THE TERRITORY OF THE RIVNE REGION.** Information about a new locality *Phytolacca acinosa* on the territory of the Rivne region is provided.

В сучасних умовах на території України інтенсивно відбувається поширення нових адвентивних видів. Тому на сучасному етапі вивчення біорізноманіття відбувається в умовах глобальних кліматичних змін та зростаючого антропогенного навантаження, особливо в урбанізованому середовищі. Аборигенний компонент флори перебуває під різностороннім пресингом, внаслідок чого рідкісні й менш стійкі види випадають із рослинного покриву. Натомість зростає рівень синантропізації рослинного покриву, активно відбувається його фітозабруднення чужорідними видами рослин (Протопопова, 1991; Протопопова, Шевера, 2019). Власне проведення первинної інвентаризації адвентивних видів є актуальним завданням сьогодення.

Рід *Phytolacca* L. є найбільшим родом в родині *Phytolaccaceae*, який нараховує від 25 видів (Dequan and Larsen, 2003, King, 2011) до понад 35 видів (Willis, 1966). Рід поширений по всьому світу, є майже космополітичним і в основному походить з Південної Америки, з кількома видами в Африці та Азії (Dequan and Larsen 2003). Кілька видів культивуються та втікають з культури і натуралізуються (цит. за Borak Martan, Šoštarić, 2016). *Phytolacca acinosa* Roxb. є аборигенним видом для помірної зони східної Азії; Гімалаїв, більшої частини Китаю, В'єтнаму до Японії. Вперше вид був описаний Вільямом Роксбурггом у 1814 році. Був завезений до Європи (Wyrzykiewicz-Raszewska 2009).

В літературних джерелах наявна інформація про поширення *Phytolacca acinosa* в кількох країнах Європи: Бельгія (Alien Plants of Belgium, 2015, Daisie, 2015, Q-bank, 2015), Данія (Daisie, 2015, Q-bank, 2015), Болгарія (Q-bank, 2015), Словенія (Lešnik, 2009), Швеція, Великобританія, Нідерланди (Q-bank, 2015) і Франція (Daisie 2015). Вважаючи вид *Phytolacca esculenta* Van Houtte синонімом *Phytolacca acinosa*, вид також був зареєстрований в Австрії (Essl 1998, Q-bank 2015), Німеччині (Jäger et al. 2013, Flora Web 2015), Швейцарії (Info Flora 2015), Чехії (Pyšek et al. 2012), Румунії (Webb and Akeroyd, 1964, Q-bank, 2015) Угорщині (Balogh 2005) та Болгарії (Zieliński et al., 2012) (цит за Borak Martan, Šoštarić, 2016), Польщі (Pliszko, Klich, 2018). *Phytolacca acinosa* наводиться як новий адвентивний вид для флори Хорватії (Borak Martan, Šoštarić, 2016) та Польщі (Wyrzykiewicz-Raszewska, 2009; Pliszko, Klich, 2018).

Для території України *Phytolacca acinosa* наводився як вид синантропної флори на території Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України (м. Київ) (Шиндер, 2019), для Сирецького дендрологічного парку загальнодержавного значення (м. Київ) (Глухова, Шиндер, Михайлик, 2021), для лісостепової частини Житомирської області (Орлов, Шиндер, Воробйов та ін., 2021) та ін. Загалом інформація про поширення *Phytolacca acinosa* як на території України,

так і Рівненської області є фрагментарною. Зокрема, у Національній мережі інформації з біорізноманіття (UkrBIN) є інформація фактично про один локалітет з м. Острога Рівненської області у якому особини *Phytolacca acinosa* були сфотографовані у 2019, 2021, 2022 роках. Нами вид виявлений локалітет “Рівненська обл, Рівненський р-н, с. Спасів, ~ 2 км. на півд.-захід, на узбіччі дороги. ВН 4276. 30.07.2022 р. Гончаренко В. І.”. Залишається актуальним завданням дослідження хорології *Phytolacca acinosa* на території України.

**Скобель Н., Мойсієнко І.**

**ВПЛИВ ЗЕМЛЕКОРИСТУВАННЯ НА БІОРИЗНОМАНІТТЯ СТАРИХ ЦВИНТАРІВ  
ХЕРСОНСЬКОЇ ОБЛАСТІ**

*Херсонський державний університет*  
*вул. Шевченка, 14, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна*  
*e-mail: [skobel2015@gmail.com](mailto:skobel2015@gmail.com)*

**Skobel N., Moysiienko I.** IMPACT OF LAND USE TO BIODIVERSITY OF OLD CEMETERIES OF KHERSON REGION. Changes in natural landscapes lead to the loss of a significant part of biodiversity. The growing environmental crisis makes biodiversity research even more necessary, especially for ecosystems threatened by land-use change. Impressionable ecosystems include cultural heritage sites such as kurgans, old settlements and old cemeteries.

Деградація біорізноманіття визнана однією з пріоритетних глобальних екологічних проблем людства, що задокументовано в Конвенції про біорізноманіття (Ріо-де-Жанейро, 1992). Для збереження біорізноманіття, що залишилося, надзвичайно важливо виявити та захистити природні місця існування з високою природоохоронної цінністю (Löki et al., 2019). На старих кладовищах Північного Причорномор'я, які закладалися та/або поблизу яких є цілинні степові ділянки зберігся степовий рослинний покрив, включаючи рідкісні види, угруповання та біотопи. Спеціальні дослідження направлені на збереження природного біорізноманіття цвинтарів в Україні раніше не проводилися.

Вже сьогодні, за нашими спостереженнями, людина нерідко сприяє збереженню природного біорізноманіття на старих цвинтарях, наприклад, вирощуванням (або залишенням) поблизу поховань місцевих рослини, що стихійно ростуть на старих кладовищах (особливо гарні степові рослини, зокрема це: *Stipa capillata* L., *Ficaria vernalis* Rchb., *Iris pumila* L., *Ornithogalum kochii* Parl., *Vinca herbacea* Waldst. & Kit, *Viola odorata* L. тощо). Завдяки цьому вони мають шанс поширитися і вижити (Moysiienko et al., 2021 A, B).

Збереження степової рослинності на старих цвинтарях залежить в першу чергу від культурального догляду за могилами, а також наявності викошування, випасу, пожеж та стану використання кладовища (закинуте/діюче). Найбільш позитивний прояв, для збереження степової флори мають покинуті цвинтарі, оскільки на них відсутня активна антропогенна діяльність (Skobel et al., 2022). Локальна традиція догляду за цвинтарями передбачає обсапування могил в ході якого частково знищується рослинний покрив, в тому числі і степові рослини, а тому необхідно пропагувати природоохоронну цінність старих цвинтарів, з метою змінити цю традицію та запропонувати такий тип догляду та рекомендації які б сприяли збереженню степового рослинного покриву.

Отримані результати підкреслюють флористичну специфіку та цінність старих кладовищ. Вони могли б відіграти важливу роль у збереженні степового фіторизноманіття та дати перспективу для майбутніх заходів з відновлення степу

**Харькова О., Заболотня А.**

ПЕРША ВЕРИФІКОВАНА ЗНАХІДКА ГРИБА *PERONEUTYPA SCOPARIA* (SCHWEIN.) CARMARÁN & A.I. ROMERO НА *CARAGANA ARBORESCENS* LAM.

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

*майдан Свободи, 4, м. Харків, 61000, Україна*

*e-mail: kharkovaya29@ukr.net, epictyn@gmail.com*

**Kharkova O., Zabolotnia A.** FIRST VERIFIED RECORD OF FUNGUS *PERONEUTYPA SCOPARIA* (SCHWEIN.) CARMARÁN & A.I. ROMERO ON *CARAGANA ARBORESCENS* LAM. As a result of microscopy, the study of pure cultures, and molecular genetic analysis (nucleotide sequences of the ITS region), the fungus from the branches of *Caragana arborescens* was identified as *Peroneutypa scoparia*. This is the first registration of the species on this adventive plant.

*Caragana arborescens* Lam. (карагана дерев'яниста або жовта акація) – листопадний багаторічний чагарник або невелике дерево з родини Бобових. Ця адвентивна рослина походить з території Східної та Центральної Азії, а до Європи була завезена і відтоді трапляється у штучних насадженнях, зокрема у лісосмугах. Гриби, асоційовані з *C. arborescens* досліджені дуже слабо. База даних ARS містить інформацію лише про 75 видів грибів на цьому субстраті, деякі з яких були зареєстровані лише на карагані.

Сумчастий гриб *Peroneutypa scoparia* (Schwein.) Carmarán & A.I. Romero належить до родини Diatrypeaceae з порядку Xylariales, класу Sordariomycetes. Він був описаний у 1822 р. американським мікологом Л. Д. фон Швейніцем під назвою *Sphaeria scoparia*. Вид характеризується зануреними в строму скупченими перитеціями з дуже довгими вивідними шийками та дрібними алантоїдними аскоспорами. Гриб починає розвиватися як паразит на гілках листяних порід дерев, а завершує вже як сапротроф на їх рештках.

Слід зауважити, що еутипоїдні гриби є доволі складними у визначенні. Серед них описано чимало видів-двійників, тому для їх впевненої ідентифікації бажано використовувати молекулярно-генетичні методи.

Нами досліджувався гербарний зразок, зібраний у жовтні 2021 р. у штучному насадженні карагани у суборі на лівому березі Печенізького водосховища (окол. с. Зарічне, Вовчанський р-н, Харківська обл., Україна). Спочатку нами було виділено чистікультири гриба на штучне поживне середовище СҮА. Колонії були округлої форми, з рівними краями та пухнастим білим міцелієм; центральна частина колонії з часом набувала димчасто-сірого забарвлення, а потім темнішала до оливково-чорного і утворювала пікніди. При мікроскопуванні спостерігалися нечисленні конідії видовженої форми. Для ідентифікації культур нами було використано молекулярно-генетичний метод дослідження, а саме аналіз послідовностей нуклеотидів в гені ITS, що кодує малу субодиницю рибосомальної РНК. Виділення, ампліфікацію та електрофорез ДНК проводили на базі кафедри мікології та фітоімунології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, а секвенування здійснювали на комерційній основі в компанії «Macrogen» (Нідерланди). Аналіз отриманих послідовностей проводили з використанням відкритої бази даних NCBI

Nucleotide Database. Він дозволив визначити культури як *Peroneutypa scoparia*. Це доволі поширений вид, відомий з країн Африки, Європи, Південної та Північної Америки, але на *Caragana arborescens* до цього часу він не був відомий.

Ізоляти *Peroneutypa scoparia* з України зберігаються в колекції чистих культур кафедри мікології та фітоїмунології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна і будуть використані для подальших досліджень.

### Юзик М.

#### ОСОБЛИВОСТІ ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ *GYPHOPHILA THYRAICA* KRASNOVA (*CARYOPHYLLACEAE*) ВНАСЛІДОК ПЕРЕДПОСІВНОЇ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ $\gamma$ -ОПРОМІНЕННЯ

Кам'янець-Подільський національний університет імені Івана Огієнка  
вулиця Огієнка, 61, Кам'янець-Подільський, Хмельницька область, 32301, Україна  
e-mail: yuzyk.mykola@gmail.com

Yuzyk M. CHARACTERISTICS OF *GYPHOPHILA THYRAICA* KRASNOVA (*CARYOPHYLLACEAE*) SEED GERMINATION AS A RESULT OF PRE-SOWING SMALL DOSES OF  $\gamma$ -IRRADIATION. Pre-sowing  $\gamma$ -irradiation of the seeds of the rare species *G. thyraica* was carried out (doses of 5 Gy, 15 Gy, and 30 Gy). Germination, vigor and stages of seed germination were analyzed. Measurement of the length of the root and the total length of the seedlings showed slight deviations in their size and speed of development. In all variants, a low intensity of seed germination is observed. The stimulatory effect of  $\gamma$ -irradiation on seed germination and germination energy was noted.

Дослідження раритетної компоненти зосереджене як на розкриття причин обмеженого поширення так і можливостей адаптації рослин до змінених умов (Кобів, 2010). Відомо, що часто одні і ті ж дози іонізуючого опромінення викликають діаметрально протилежні відповіді у різних організмів. У зв'язку з цим важливо з'ясувати, як  $\gamma$ -опромінення насіння в малих дозах, позначається на подальшому розвитку рослин на початкових етапах онтогенезу. Об'єктом дослідження є *Gypsophila thyraica* Krasnova – рідкісний подільський ендемічний вид, релікт (Червона книга України, 2009). Розмноження рослин відбувається виключно генеративним способом, тому актуальним є аналіз впливу різних чинників на насіннєве відтворення виду.

Метою дослідження був аналіз особливостей проростання насіння *G. thyraica* за умови передпосівного  $\gamma$ -опромінення малими дозами. Насіннєвий матеріал виду відібрано в умовах заказника «Вербецькі Товтри» (Хмельницька область). Опромінення насіння проводили на установці «Исследователь РХ- $\gamma$ -30» гамма-квантами ( $C^{60}$ ) (Науково-дослідний інститут хімії при Харківському національному університеті імені В.Н. Каразіна). Потужність дози джерела становила 36 Гр/хв. Загалом проаналізовано 200 насінин, які розподілені по 50 шт. у 4 варіанти з різною дозою опромінення: В. 1 – 5 Гр, В. 2 – 15 Гр, В. 3 – 30 Гр, В. 4 – контрольна неопромінювана група. Лабораторну схожість та енергію проростання насіння визначали методом пророщування в лабораторних умовах за загальноприйнятими методиками (Фірсова, 1978; Ніколаєва, 1985; Каленська, 2011). Експеримент тривав 14 днів, у кожному варіанті щодня підраховували кількість нормальних та аномальних пророслих насінин; на 4-5-6 дні вимірювалась довжина кореня і проростків.

Під час проростання насіння *G. thyraica* спостерігали п'ять етапів: водопоглинання; набухання; ріст первинних корінців; розвиток проростка; становлення проростка. Проростання опроміненого насіння у 1, 2, і 3 варіантах

почалося на 5-й день з моменту закладання експерименту, у четвертому варіанті – неопромінене насіння почало проростати лише на 8 день. Загальна схожість насіння була низькою у всіх варіантах: у 1-му – 10%, у 2-му – 18%, у 3-му – 24%, у контрольній групі, яка не опромінювалася, найнижчою – 8%. Найбільша кількість пророслих насінин зафіксована на 7-й день після початку експерименту у 1 і 2 варіантах, тоді як у 3 і 4 варіантах – на 10-й. Далі проростання нового насіння практично не спостерігалось. Енергія проростання насіння обчислювалася у відсотках до висіяної проби на 5-й день у кожному варіанті. У 1 варіанті вона становила 2%, у 2 і 3-му – 12%. Вимірювання довжини кореня проростків показало незначні відхилення в розмірах і швидкості розвитку рослин у різних варіантах опромінення.

Загалом у всіх варіантах спостерігається низька інтенсивність проростання насіння. Відмічено стимулюючу дію  $\gamma$ -опромінення на схожість та енергію проростання насіння, проте для остаточних висновків необхідним є продовження досліджень в декількох повторах.

**Юзьвак Х., Одінцова А.**

**ВИДОВИЙ СКЛАД ТРАВ'ЯНИХ РОСЛИН БОТАНІЧНОГО ЗАКАЗНИКА**

**«УРОЧИЩЕ УГРИНІВ»: ПОПЕРЕДНІ ДАНІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: tyhakristina@gmail.com*

**Yuzvak K., Odintsova A. SPECIES COMPOSITION OF HERBAL PLANTS IN THE BOTANICAL RESERVE "UROCHYSCHЕ UHRYNIV": PRELIMINARY DATA.** Uhryniv tract is a part of the Buda general zoological reserve of local significance in Ukraine. It is located near the Uhryniv village, to the southwest of Pidhaitsi, Ternopil district, Ternopil region. Totally 80 species of herbaceous plants from 35 families of early spring flora and spring-summer flora were identified and mapped. Among them, the species-richest are *Ranunculaceae*, *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, and *Plantaginaceae* families. Six rare species from the Red Book of Ukraine were found.

Ботанічний заказник місцевого значення "Урочище Угринів" входить до складу загальнозоологічного заказника місцевого значення "Буда", який розміщений на території Тернопільського Опілля. Опілля – давньоруська назва безлісних або малолісистих рівнинних територій з родючими ґрунтами в межах лісових зон, які здавна використовувалися під орні землі. Територія заказника "Буда" площею 398 га розташована між м. Підгайці та селами Рудники і Мужилів Тернопільського району Тернопільської області.

Ботанічний заказник "Урочище Угринів" розташований на території села Угринів. Угринів – невелике село, розміщене по обидвох боках шляху Підгайці–Завалів, за 3 км на південний захід від м. Підгайці. Угринів відомий ще з 1515 року, зокрема згадується у праці М. Недзвецкі "Повят Подгаєцкі", виданій у 1896 році. Територія Угринова горбисто-лісиста, з великою кількістю джерел, що утворюють потік Яблунівка, який біля с. Завалова впадає у річку Золота Липа. Флористичні дослідження в околицях Угринова раніше не проводились, тому метою нашої роботи було встановити видовий склад ранньо-весняних трав'яних рослин на території урочища та доповнити інформацію про їх поширення.

Дослідження флори проводили у 2021–2022 роках з березня по червень маршрутним методом. Види ідентифікували за "Визначником рослин України"



(1965). Дані про знахідки видів з прив'язкою до географічних координат завантажували в базу даних з вивчення біорізноманіття UkrBIN ([https://ukrbin.com/show\\_user.php?uid=1803](https://ukrbin.com/show_user.php?uid=1803)). UkrBIN – національна мережа інформації з біорізноманіття, яка поєднує та акумулює зусилля біологів, натуралістів-волонтерів, аматорів, що цікавляться або досліджують природу та допомагають збиранню та аналізу первинної інформації про поширення видів флори, фауни та мікобіоти (Сичак, Юнаков, 2019).

Усього виявлено у квітучому стані та закартовано локалітети 80 видів трав'яних рослин ранньовесняної та весняно-літньої флори. Найбільш чисельними родинами в укладеному списку флористичних знахідок є родини *Ranunculaceae* (8 видів), *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* та *Plantaginaceae* (по 5 видів). Від 1 до 4 представників виявлено з 29 родин покритонасінних (*Adoxaceae*, *Amaryllidaceae*, *Apiaceae*, *Apocynaceae*, *Aristolochiaceae*, *Asparagaceae*, *Boraginaceae*, *Brassicaceae*, *Campanulaceae*, *Cistaceae*, *Cyperaceae*, *Dipsacaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fumariaceae*, *Geraniaceae*, *Liliaceae*, *Linaceae*, *Myrsinaceae*, *Onagraceae*, *Orchidaceae*, *Orobanchaceae*, *Poaceae*, *Polygalaceae*, *Polygonaceae*, *Primulaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Santalaceae*, *Urticaceae*).

Знайдено локалітети шести видів, які занесені до Червоної книги України (2009), а саме: *Galanthus nivalis* (*Amaryllidaceae*), *Lilium martagon* (*Liliaceae*), *Neottia nidus-avis* (*Orchidaceae*), *Platanthera bifolia* (*Orchidaceae*), *Sesleria caerulea* (*Poaceae*) та *Pulsatilla patens* (*Ranunculaceae*).

## ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

**Багрійчук К., Осташ І.**

РОЛЬ ГЕНА МНОЖИННОЇ СТІЙКОСТІ *ydfJ2* У СИНТЕЗІ ЛАНДОМІЦИНІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка

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

e-mail: bagriichukate@gmail.com

**Bagriichuk K., Ostash I.** ROLE OF A MULTI-DRUG RESISTANT GENE *ydfJ2* in LANDOMYCIN BIOSYNTHESIS. A gene overexpression method is one of the main tool for activation of silent clusters or improvement of a level of biosynthesis of secondary metabolites. We explored an effect of overexpression of gene *ydfJ2* on a biosynthesis of landomycins. An additional copy of the gene increases the level of landomycin biosynthesis compared to wild type and improves resistance to landomycin in *S. cyanogenus* Δ2.

Бактерії роду *Streptomyces* вже багато десятиліть є одним з основних джерел важливих сполук, зокрема антибіотиків. *Streptomyces cyanogenus* S136 є природнім продуцентом вторинних метаболітів ангуциклінової природи – ландоміцинів. Структурною особливістю ландоміцинів є довгий вуглеводневий ланцюг, який утворює глікозидний зв'язок з агліконовим фрагментом-гексозою. Зокрема LaA складається з чотирьох залишків D-олівози і двох L-родинози. Геном *S. cyanogenus* S136 містить кластер генів біосинтезу LaA, в межах якого два гени, *lanJ* та *lanK*, задіяні у експорті цього антибіотика з клітин продуцента. Проте ці гени не є ключовими.

З неопублікованих даних відомо, що ген *XNR\_2104* задіяний у множинній стійкості *S. albidoflavus* до антибіотиків, зокрема ландоміцинів. У геномі *S. cyanogenus* S136 нами виявлено ген *ydfJ2* - ортолог гена *XNR\_2104*, розташований поза межами кластеру біосинтезу ландоміцинів. Ген *ydfJ2* належить до представників родини MMPL, функція яких поки що невідома, але, ймовірно, вони беруть участь у транспортуліпідів.

*S. cyanogenus* Δ2 - штам у якого видалені гени-паралоги *lanJ* і *s136\_3375*, які задіяні у транспорті ландоміцинів. Делеція цих транспортерів призводить до зменшення життєздатності штаму *S. cyanogenus* Δ2 за ферментативних умов. Нами сконструйовано штаму S136 та Δ2 з надекспресією гена *ydfJ2*. В результаті ферментації, екстракції та тонкошарової хроматографії з'ясували, що введення додаткової копії гена *ydfJ2* підвищує рівень синтезу LaA у штамі дикого типу S136 та збільшує стійкість до ландоміцинів у мутанті Δ2. Проте надекспресія цього гена у штаммах дикого типу чи *S. albidoflavus* не мала впливу на стійкість до ландоміцину A.

**Горінь М., Сорочинська Х., Ткачук М., Матійців Н.**

ОЦІНКА РІВНЯ ТРИАЦИЛГЛІЦЕРИДІВ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СТРЕСІ  
У МУТАНТІВ ЗА ГЕНОМ *SWISSCHEESE* DROSOPHILA MELANOGASTER

Львівський національний університет імені Івана Франка

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

e-mail: marja.gorn@gmail.com

**Horin M., Sorochynska Kh., Tkachuk M., Matiytsiv N.** ASSESSMENT OF THE LEVEL OF TRIACYLGLYCERIDES UNDER METABOLIC STRESS IN SWISS CHEESE GENE DROSOPHILA MELANOGASTER MUTANTS During starvation, lifespan *sws<sup>1</sup>* mutants was shorter than when they were fed normally. And since SWS is a phospholipase, we hypothesized that it might be involved in triacylglyceride storage. We

compared the change the TAG level in control flies – *OregonR*, mutant flies– *sws<sup>1</sup>*, miRNA mutants – *miR966<sup>[KO]</sup>*, *miR281<sup>[KO]</sup>* during starvation and normal feeding. Our data show that during starvation, the level of triglycerides decreases in control flies – *OregonR*, as well as in miRNA mutants – *miR966<sup>[KO]</sup>*, *miR281<sup>[KO]</sup>*. However, there is no difference in mutant flies–*sws<sup>1</sup>*. This indicates that the triacylglycerol hydrolysis process is damaged in *sws<sup>1</sup>*.

*Swiss cheese Drosophila melanogaster* та *Patatin like phospholipase domain containing 6 Homo sapiens* – гени-ортологи мутація в яких здатна викликати нейродегенеративні порушення. Механізм виникнення таких нейродегенерацій на даний час є не відомим. Тому *Drosophila* є чудовим об'єктом для вивчення цієї проблеми, зокрема безпосередньо функції білка SWS.

Попередньо було показано, що мутанти *sws<sup>1</sup>* є чутливими до голодування. За відсутності поживних речовин їхня життєздатність різко падає порівняно з диким типом. Голодування є важливим дієтичним стресом, який перевіряє здатність тварини мобілізувати запаси поживних речовин для виживання. Тому ми припустили, що SWS може бути залучений в обміні триацилгліцеридів (ТАГ).

У роботі використані лінії: *OregonR*; *sws<sup>1</sup>* (люб'язно надана проф. Д. Кречмар); 58910, 58947 взяті з Bloomington drosophila stock center (США). Для створення умов метаболічного стресу ми відбирали 4-6 денних самців і переміщали на пробірки з агарозним середовищем (1% агарози) до якого додавали дистильовану воду. Як контроль, замість води, ми додавали розчин (10% сахароза, 1% дріжджовий екстракт). Після 5 діб такого згодовування відбирали цілі тіла мух і заморожували для подальшого аналізу. Вміст ТАГ ми визначали колориметричним ензиматичним способом. Отриманий показник прирівнювали до рівня кількості білка в зразку, який вимірювали за методом Бредфорда.

Оскільки голодування це метаболічний стрес, ми вирішили перевірити рівень ТАГ також у мутантів *miR966<sup>[KO]</sup>* та *miR281<sup>[KO]</sup>*, які згідно з попередніх досліджень регулюють рівень мРНК *sws*.

У особин дикого типу – *OregonR*, у мутантів *miR966<sup>[KO]</sup>* та *miR281<sup>[KO]</sup>* рівень ТАГ, як і очікувалось, при голодуванні зменшувався. Це свідчить про здатність особин зазначених ліній використовувати ТАГ при голодуванні. Тоді як у мутантів *sws<sup>1</sup>* рівень ТАГ залишався високим за всіх умов.

Таким чином, наші дані свідчать про порушення процесу гідролізу ТАГ у мутантів *sws<sup>1</sup>*.

**Кравчик Г., Голуб Н.**

**ВПЛИВ СУМІШІ ТАУРИНУ ТА N-АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ  
ТА РУХОВУ АКТИВНІСТЬ У ДИСТРОФІНОВИХ МУТАНТІВ**

***DROSOPHILAMELANOGASTER***

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: galia5588com@gmail.com*

**Kravchik H., Holub N.** THE INFLUENCE OF TAURINE AND N-ACETYLCYSTEINE MIXTURE ON LIFE SPAN AND LOCOMOTIVE ACTIVITY IN DROSOPHILA MELANOAGASTER DYSTROPHY MUTANTS. The effect of two antioxidants mixture 0,1% taurine and 1% N-acetylcysteine, during adult feeding of *Drosophila melanogaster* dystrophy mutants *DysDf//Tm6,Tb* was studied. It was shown that the use of this mixture leads to increasing in 1,8-2,2 times of locomotor activity on 1-3<sup>th</sup> and 10-12<sup>th</sup> days of imago's life and to increase of life span indexes in the second half of life.

М'язова дистрофія Дюшена – це спадкове захворювання, зумовлене мутаціями в гені дистрофіну, який знаходиться в Х-хромосомі. Відсутність дистрофіну

призводить до дегенерації та ослаблення скелетних м'язів, що з часом призводить до смерті хворого. Лікування цього захворювання сьогодні відбувається гормонально (що має певні побічні ефекти) або за допомогою методів високовартісної генної терапії. Тому пошук ефективних і недорогих препаратів, які б відтермінували появу дегенеративних змін у м'язах – актуальний напрям досліджень. Особлива увага приділяється лікарським препаратам – антиоксидантам, оскільки при м'язовій дистрофії відмічено підвищений рівень вільних радикалів. Таурин – це сірковмісна амінокислота, яка має антиоксидантну, імуномодуляторну, гальмує підвищення концентрації холестерину в крові. Введення таурину покращує функції скелетних м'язів. N-ацетилцистеїн (N-АЦ) – тіол, попередник амінокислоти L-цистеїну. Основна роль N-АЦ пов'язана з його антиоксидантною та протизапальною активністю, що сприяє підтримці клітинного окислювально-відновного дисбалансу.

Метою нашої роботи було дослідити вплив суміші 0,1% таурину та 1% N-АЦ на тривалість життя та рухову активність дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster* за згодовування імаго. Суміш вносили на поживне середовище. Матеріалом досліджень служила лабораторна лінія *Drosophila melanogaster* *DysDf//Tm6, Tb*. Дана лінія містить делецію, яка повністю охоплює ген дистрофіну *Dys*. Такі «справжні» делеційні мутанти за фенотиповим проявом близькі до м'язової дистрофії Дюшена людини.

Показниками середньої тривалості життя (СТЖ) є  $S_{75}$ ,  $S_{50}$  та  $S_{25}$  – дні, на котрі залишається 75%, 50% та 25% імаго вибірки. МТЖ – день, на котрий залишається живими 10% імаго. Група незатравлених дистрофінових мутантів (контроль) характеризувалася наступними показниками СТЖ:  $S_{75}$  – 6 днів,  $S_{50}$  – 19 днів,  $S_{25}$  – 26 днів. Максимальна тривалість життя становила 50 днів. Вживання суміші таурину і N-АЦ приводило до достовірного зростання показників  $S_{50}$  (з 19 до 23 днів) та  $S_{25}$  (з 26 до 33 днів). СТЖ і МТЖ у групи, яка вживала суміш були вірогідно вищими, ніж у контрольної групи. Показник  $S_{75}$  підвищився, але невірогідно. Максимальна тривалість життя становила 51 день (проти 50 днів у контролі).

Нами було визначено індекс рухової активності (ІРА) методом climbing-тесту у оброблених та контрольних імаго. Дослід проводили на 1-3-й, 4-6-й, 7-9-й і 10-12-й дні життя імаго. У контрольній лінії *DysDf//Tm6, Tb* 1-3-денного віку ІРА становив 0,62, у 4-6-денних – 0,64, у 7-9-денних – 0,61, у 10-12-денних – 0,25. Після згодовування суміші ІРА у 1-3-денних осіб становив – 1,13, у 4-6-денних – 0,74, у 7-9-денних – 0,70, у 10-12-денних – 0,55. Отже, суміш двох антиоксидантів мала позитивний вплив на показник ІРА дистрофінових мутантів на 1-3 і 10-12 день життя імаго.

Отже, суміш 0,1% таурину та 1% N-АЦ проявила частково позитивний ефект на тривалість життя та рухову активність дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster*. Цікавими залишаються подальші дослідження цієї суміші, але в інших концентраціях, на фенотиповий прояв м'язової дистрофії у *Drosophila melanogaster*.

**Лань В., Горінь М., Матійців Н.**

**РОЛЬ ГЕНІВ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В РОЗВИТКУ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЇ  
У *DROSOPHILA MELANOGASTER***

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: vikalano10@gmail.com*

**Lan V., Horin M., Matiytsiv N.** THE ROLE OF LIPID METABOLISM GENES IN THE DEVELOPMENT OF NEURODEGENERATION IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*. To understand the role of SWS in the cell and its participation in signalling pathways, we are looking for which genes *sws* interacts with. Our aim was to

analyze the phenotype of the brain tissue of 20-day-old flies in which the expression of the gene-interactor is silenced in those cells where SWS is expressed. For this, we used the *Gal4/UAS* system. We expected to see a phenotype similar to the mutant's *sws*<sup>1</sup>. As a result, genes *nessy*, *calcium-independent phospholipase A2VIA*, which are involved in lipid metabolism, are interesting for further research.

Ген *swiss cheese* *D. Melanogaster* кодує трансмембранний білок з фосфоліпазною функцією. Він є ортологом *PNPLA6/NTE* людини, який є одним з ключових факторів у розвитку нейропатії спричиненої фосфорорганічними речовинами. Встановлено, що як мутації в *PNPLA6/NTE* людини, так і в *sws* мушки, здатні спричиняти нейродегенеративні пошкодження. Проте механізми протікання цих процесів залишаються невідомими. Тому для розуміння ролі SWS в клітині та участі його в сигнальних шляхах ми вирішили знайти з якими генами взаємодіє *sws*.

В попередніх дослідженнях було обрано потенційні гени-інтерактори ліпідного обміну гена *sws*. Нашою метою є дослідити цю генетичну взаємодію за допомогою зниження експресії гена-інтерактора в тих клітинах, де експресується SWS. Для цього ми використали систему *Gal4/UAS*. Ми схрещували мух, які містять конструкт *sws-Gal4* з мухами які несуть *UAS-RNAi*. Тобто *RNAi* гена-інтерактора знаходиться під контролем промотора, якому потрібен активатор транскрипції *GAL4*, щоб зв'язатись з енансерною послідовністю *UAS* і забезпечити експресію трансгену. В нашому випадку експресія білка *GAL4* керується промотором гена *sws*. Серед нащадків такого схрещування ми відбирали 20-ти денних самців для виготовлення парафінових зрізів тканини мозку. Оскільки мутанти *sws*<sup>1</sup> мають специфічний фенотип у вигляді утворення вакуоль по всьому мозку, то ми очікували побачити подібний прояв в наших досліджуваних особинах.

На даний момент ми перевірили гени *nessy*, *calcium-independent phospholipase A2 VIA*, *β amyloid protein precursor-like*, *GXIVsPLA*, які залучені в ліпідному обміні. У особини *sws-Gal4/Y; +/UAS-ApplRNAi* та *sws-Gal4/Y; +/UAS-GXIVsPLA2RNAi* ми спостерігали фенотип дикого типу. У особин *sws-Gal4 /Y; +/UAS-iPLA2-VIARNai* та *sws-Gal4/Y; +/UAS-nesRNAi* ми побачили зони нейродегенерації в ділянці між ретиною і ламіною тканини мозку, що характерно й для мутантів *sws*<sup>1</sup>. Таким чином гени *nessy*, *calcium-independent phospholipase A2VIA* є цікавими для подальших досліджень.

**Мельник М.<sup>1</sup>, Жукровська К.-О.<sup>1</sup>, Ющук О.<sup>1,2</sup>, Марінеллі Ф.<sup>2</sup>, Федоренко В.<sup>1</sup>**  
ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ГЕНІВ *RAMO21-RAMO22* У БІОСИНТЕЗІ РАМОПЛАНІНУ  
В *ACTINOPLANES RAMOPLANINIFER* ATCC 33076

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

<sup>2</sup> Університет Інзубрії, вул. Дунанта, 3, м. Варезе, 21000, Італія  
e-mail: mariamelnik465@gmail.com

**Melnyk M., Zhukrovska K.-O., Yushchuk O., Marinelli F., Fedorenko V.**  
STUDYING THE ROLE OF *RAMO21-22* GENES IN RAMOPLANIN BIOSYNTHESIS  
IN *ACTINOPLANES RAMOPLANINIFER* ATCC 33076. Ramoplanin is a glycolipodepsipeptide antibiotic obtained from fermentation broth of *Actinoplanes ramoplaninifer* ATCC 33076. This drug was shown to be highly efficient against a wide range of infections caused by multi-drug resistant Gram-positive bacteria. We aimed to investigate the role of *ramo21* and *ramo22* genes, coding for a two-component response system in the ramoplanin biosynthetic gene cluster. To this goal, we generated two

*A. ramoplaninifer* recombinant strains pSARA21 and pSARA22, overexpressing of regulatory genes *ramo21* and *ramo22*. Investigation of the ramoplanin production levels in these recombinants is underway.

Станом на сьогодні однією з найголовніших проблем медицини є зростаюча стійкість патогенних мікроорганізмів до антибіотиків. Тому, одним з провідних завдань біотехнології є пошук нових антибіотиків та покращення продукції вже існуючих з використанням генно-інженерних підходів. Рамопланін – перспективний ліпоглікодепептидний антибіотик, що блокує біосинтез клітинної стінки Грам-позитивних бактерій. Метою нашої роботи є дослідження генів, що потенційно беруть участь у регуляції біосинтезу рамопланіну, зокрема генів двокомпонентної системи відповіді *ramo22* (кодує сенсорну гістидинову кіназу) та *ramo21* (кодує регулятор відповіді).

На теперішній час, окрім рамопланіну, відомою є хімічна структура черсінаміцину та ендурацидину, всі які є спорідненими сполуками. Їх об'єднує унікальний механізм дії, що забезпечує відсутність перехресної резистентності з іншими відомими класами антибіотиків. Цей механізм полягає у пригніченні формування клітинної стінки Грам-позитивних бактерій шляхом зв'язування унікального епітопу ліпиду II, що унеможливорює подальші етапи біосинтезу клітинної стінки. Це вирізняє дану групу антибіотиків серед інших доступних антибактерійних сполук і актуалізує потребу в вивченні механізмів їх біосинтезу.

Певні аспекти шлях-специфічної регуляції вивчалися у продуцента ендурацидину *Streptomyces fungicidicus* ATCC 21013. Відомо, що кластер біосинтетичних генів (КБГ) ендурацидину містить двокомпонентну систему відповіді, яку кодують гени *orf41* та *orf42*. *orf41* – ген регулятора відповіді, а *orf42* – ген сенсорної гістидинкінази. За допомогою біоінформатичного аналізу визначено, що регуляторні гени *orf41* та *orf42* у *S. fungicidicus* є ортологами генів *ramo21* та *ramo22* у *A. ramoplaninifer*, відповідно. Попередніми дослідженнями показано, що надекспресія *orf42* в штамі дикого типу веде до збільшення продукції ендурацидину в 2-3 рази (Y.-W. Chen<sup>1</sup>, X.-C. Liu<sup>2</sup> et al, 2019).

Нами було вирішено вивчити вплив надекспресії генів *ramo21* та *ramo22* на біосинтез рамопланіну. Для цього за основу використовували кон'югативний інтегративний вектор pSET152A, що має ген стійкості до апраміцину *aac(3)IV*. Гени *ramo21* та *ramo22* було клоновано по сайтах ендонуклеаз рестрикції *EcoRV* та *EcoRI* під контролем сильного конститутивного апраміцинового промотора *aac(3)IVp*, що є ефективним для надекспресії генів в *Actinoplanes* spp. Отримані вектори перенесли в *A. ramoplaninifer*, створюючи в такий спосіб рекомбінантні штами pSARA21<sup>+</sup> та pSARA22<sup>+</sup>. Також цікаво було визначити чи має сенс надекспресія відразу обох генів двокомпонентної системи. Щоб це зрозуміти, було сконструйовано вектор pSARA22-21, в якому фрагмент ДНК, що несе гени *ramo22-21* (довжиною 1866 пар нуклеотидів), також було клоновано по сайтах ендонуклеаз рестрикції *EcoRV* та *EcoRI* в pSET152A.

Всі отримані рекомбінантні штами вирощували в рідкому середовищі ISP5, а зразки культуральної рідини використовувалися для тестів на пригнічення росту культур *Bacillus subtilis* HB0950 та HB0953. На даному етапі досліджень використані методи оцінки не дали нам змогу точно визначити рівень біосинтезу рамопланіну. Надалі планується якісне і кількісне визначення рівня продукції рамопланіну рекомбінантними штамами за допомогою ВЕРХ.

**Олексюк К., Боднар Л.**

ОЦІНКА МОЖЛИВОЇ ГЕНОТОКСИЧНОЇ ДІЇ СИНТЕТИЧНИХ  
АРОМАТИЗАТОРІВ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ «М'ЯТА» ТА «ЧОРНОСЛИВ»  
ФІРМИ ETOL

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

**Olexuk K., Bodnar L.** ASSESSMENT OF THE POSSIBLE GENOTOXIC EFFECT OF SYNTHETIC FLAVORING «MINT» AND «PRUNES» OF THE ETOL FIRM. No mutagenic activity was detected in comparison with the control on a four eukaryotic test-systems under influence of recommended daily dose of «Mint» flavoring. A daily dose of "Prunes" showed a weak mutagenic effect in *Allium cepa* ana-telophase test and in increasing of *Drosophila* dominant lethal mutations. A significant induction of mutagenic activity was observed in the study of flavouring samples of higher concentrations according to the results of all tests

На сьогодні серед нових модифікацій готової продукції є внесення великої кількості харчових добавок, в тому числі і ароматизаторів, в склад яких входять різноманітні речовини хімічної природи. Контроль за забрудненням харчових продуктів токсичними речовинами введений в багатьох країнах світу. Процес виявлення, ідентифікації окремих токсичних речовин в харчових продуктах трудомісткий і потребує спеціального аналітичного обладнання та фахівців високої кваліфікації, підготовка яких в Україні поки що не налагоджена. Впровадженню нових харчових добавок повинно передувати проведення експериментальних досліджень на тваринах з вивченням загальної токсичності, кінетики в організмі, обміну речовин (на гризунах, дрозофілі, рослинних організмах), а також дослідження віддалених наслідків використання харчових добавок (ембріо-, гонадотоксичність, канцерогенність, мутагенність, алергогенність), клінічні спостереження на добровольцях. В даній роботі проведені генотоксичні дослідження харчових ароматизаторів «М'ята» та «Чорнослив» фірми «ETOL», які застосовуються в кондитерському виробництві з використанням чотирьох тест-систем еукаріотичних організмів: індукування хромосомних аберацій у клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* L.; метод доміантних летальних мутацій (ДЛМ) на *Drosophila melanogaster*; індукування соматичних мутацій і рекомбінацій на *Drosophila melanogaster* та індукування хромосомних аберацій в клітинах кісткового мозку *Mus musculus*. Хімічними складовими ароматизатора «М'ята», за поданням виробника, є деканова та пропіонова кислоти, гемаокталактон. Хімічними складовими ароматизатора «Чорнослив» є геліотропін, діацетил та пропіленгліколь. Кількісна характеристика тої чи іншої хімічної речовини в паспортах ароматизаторів не подається.

Ароматизатор «М'ята» за дози, збільшеної у 10 разів від рекомендованої добової, індукував появу різних типів хромосомних аберацій в ана-телофазному тесті на клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* та в клітинах кісткового мозку *Mus musculus*. При дослідженні зразків даної концентрації виявлений слабкий мутагенний ефект в тестах на індукування соматичних рекомбінацій та доміантних летальних мутацій на *Drosophila melanogaster*. За дії рекомендованої виробником добової дози ароматизатора «М'ята» мутагенних ефектів не виявлено.

Зразок рекомендованої виробником добової дози харчового ароматизатора «Чорнослив» показав слабкий мутагенний ефект у ана-телофазному тесті на клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* та у методі на виявлення домінантних летальних мутацій на *Drosophila melanogaster*.

Хімічні компоненти даного ароматизатора індукували переважно поодинокі розриви хромосом, ацентричні фрагменти як результат делецій та парні дицентричні хромосоми, які з'являються в результаті транслокаційних перебудов. За дії дози, збільшеної в 10 разів від добової в даних тестах спостерігали вдвічі зростання мутагенної активності, порівняно з контрольними даними. Слабкий мутагенний ефект, також, виявлений при аналізі соматичних мутацій та рекомбінацій у *Drosophila melanogaster* та хромосомних аберацій в клітинах *Mus musculus*, але лише при дослідженні дози, збільшеної у 10 разів. Показники за дії добової дози даного ароматизатора в цих тестах статистично не відрізнялися від контрольних даних.

**Целех В., Голуб Н.**

**ВПЛИВ КУРКУМІНУ НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ  
У ДИСТРОФІНОВИХ МУТАНТІВ *DROSOPHILAMELANOGASTER***

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: vikapelekh337@icloud.com*

**Pelekh V., Holub N.** THE INFLUENCE OF CURCUMIN ON LIFE SPAN OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* DYSTROPHY MUTANTS. The influence of 10% curcumin on life span of *Drosophila melanogaster* dystrophy mutants *DysDf//TM6, Tb* with deleted the dystrophin gene was analyzed. The results indicate an increasing of average and maximum indexes of life expectancy of dystrophin mutants. The use of curcumin as a dietary supplement in the treatment of Duchenne dystrophy require further research including vertebrates.

М'язова дистрофія Дюшена – це спадкове захворювання, що характеризується прогресуючим виснаженням м'язів і слабкістю. Воно успадковується як рецесивна ознака, зчеплена з X-хромосою. Причиною виникнення міопатії є мутації в гені дистрофіну і, як наслідок, недостатня експресія білка дистрофіну або ж його відсутність. Відсутність функціонального дистрофіну перешкоджає зв'язку між внутрішньоклітинним цитоскелетом і клітинною мембраною, що призводить до повторюваних циклів міонекрозу та регенерації. Лікування цього захворювання сьогодні відбувається гормонально або за допомогою методів високовартісної генної терапії. Тому пошук дешевих ефективних ліків – актуальний напрям досліджень. Куркумін (діферулоілметан) є основною біологічно активною поліфенольною сполукою, яка широко використовується як харчова добавка, дієтичні спеції та трав'яні ліки. Він має потужні біохімічні та біологічні властивості, включаючи протизапальну, противірусну, антибактеріальну антиоксидантну та протипухлинну дію. Було показано, що він має властивості сповільнювати старіння.

Метою нашої роботи було проаналізувати вплив 10% куркуміну на тривалість життя та рухову активність дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster*. Затравку проводили зразу ж після вильоту імаго. Матеріалом досліджень служила лабораторна лінія *Drosophila melanogaster DysDf//Tm6, Tb*. Дана лінія містить делецію, яка повністю охоплює ген дистрофіну *Dys*. Такі мутанти за фенотиповим проявом близькі до м'язової дистрофії Дюшена людини.



Попередньо ми визначили вплив куркуміну в концентраціях 0,1%, 1,0% та 10% на виживання дистрофінових мутантів. Оптимальною в нашому експерименті виявилася 10% концентрація, яка і була використана в подальшій роботі. До того ж, 10% розчин куркуми збільшував виліт імаго у лінії дикого типу *Oregon*. Нами було побудовано криві виживання та проаналізовано показники середньої (СТЖ) та максимальної (МТЖ) тривалості життя контрольних та затравлених 10% розчином куркуміну імаго. Розчин куркуми вносили в поживне середовище для личинкового згодовування та після вильоту імаго розкапували на середовище для дорослого згодовування. Як контроль використовували необроблених імаго. Контрольна група дистрофінових мутантів характеризувалася наступними показниками СТЖ (дні, коли залишається живими 75%, 50% та 25% імаго вибірки):  $S_{75}$  – 18 днів,  $S_{50}$  – 31 день,  $S_{25}$  – 46 днів. Максимальна тривалість життя (день, на котрий залишається живими 10% особин вибірки) становила 52 дні. Крива виживання цієї групи не містила плато, що вказує на пришвидшене старіння. Показники СТЖ у групи, яка вживала 10% розчин куркуми, були достовірно вищими, ніж у контролі. Так, показник  $S_{75}$  досягав 25 днів,  $S_{50}$  – 37 днів, а показник  $S_{25}$  – 49 днів. Максимальна тривалість життя становила 55 днів. Крива виживання цієї групи не містила плато, але на початковій стадії експерименту дуже повільно падала вниз.

Отже, у дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster* застосування 10% розчину куркуміну призводило до зростання показників СТЖ, проте не зумовлювало відновлення плато. Застосування куркуміну як БАД у терапії м'язової дистрофії Дюшена потребує ще подальших досліджень, в тому числі і на хребетних.

**Сидорко Я.<sup>1</sup>, Ребець Ю.<sup>2</sup>, Остап І.<sup>1</sup>**

**КОНСТРУЮВАННЯ ШТАМУ-ПЛАТФОРМИ *STREPTOMYCES ALBUS* ДЛЯ  
ГЕТЕРОЛОГІЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ ТЕРПЕНІВ**

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

<sup>2</sup>Товариство з обмеженою відповідальністю «Експлоджен»  
вул. Зелена 20, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: sidorko668@gmail.com

**Sydorko Y.<sup>1</sup>, Rebets Y.<sup>2</sup>, Ostash I.<sup>1</sup> CONSTRUCTION OF *STREPTOMYCES ALBUS* PLATFORM STRAIN FOR HETEROLOGOUS PRODUCTION OF TERPENES.** Historically, actinomycetes are the richest source of natural compounds. In the genomes of different species of actinomycetes, gene clusters of the same compounds are often present, which are repeatedly identified. However, the study of the genomes of these bacteria indicates the presence of numerous unique and uncharacterized gene clusters for the biosynthesis of secondary metabolites. However, most of these clusters are cryptic. To solve this problem, there is a method of heterologous expression of gene clusters of biosynthesis of secondary metabolites in specially selected and optimized host strains.

Історично склалося, що актиноміцети є найбагатшим джерелом природних сполук. У геномах різних видів актиноміцетів часто наявні кластери генів одних і тих же сполук, які повторно ідентифікуються. Проте дослідження геномів цих бактерій вказує на наявність численних унікальних та неохарактеризованих кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів. Однак більшість з цих кластерів є криптичними. Для розв'язання цієї проблеми існує метод гетерологічної експресії кластерів генів

біосинтезу вторинних метаболітів в спеціально відібраних та оптимізованих штаммах-господарях.

Тому метою цього дослідження є покращення властивостей штаму *S. albus*, як господаря для гетерологічної експресії кластерів генів біосинтезу природних сполук за рахунок введення мутацій у гени *rsmG* та *rpsL*.

*S. albus* Del14 є похідним штаму *S. albus* J1074, з якого було видалено 14 власних кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів. Видалення цих кластерів не вплинуло на ріст та морфологію штаму *S. albus* Del14. Вторинний метаболізм такого штаму спрощений і це значно полегшує виявлення та очищення нових синтезованих сполук. З цього штаму було делетовано ген *rsmG*, а також перенесено ВАС 1F1 Am-*rpsL* (ген стійкості до апраміцину) та ВАС 1F10 Hyg-*rpsL* (ген стійкості до гігроміцину). Таким чином було отримано штам, у якому ген *rpsL* фланкований маркерами Am і Hyg, що відкриває можливість відбору колоній із заміщенням гена *rpsL* на його мутантний варіант.

Згодом у штам-платформу *S. albus* Del14  $\Delta$ *rsmG/rpsL*-Am/*rpsL*-Hyg було перенесено ВАС-клони, які містять точкові мутації гена *rpsL*, а саме P91S і R94G. Отримано штами *S. albus* Del14  $\Delta$ *rsmG*/P91S і *S. albus* Del14  $\Delta$ *rsmG*/R94G. Наявність точкових мутацій у гені *rpsL* була підтверджена методом секвенування за Сенджером. Результати секвенування підтвердили присутність точкових мутацій P91S та R94G у гені *rpsL*. У майбутньому мутантні штами *S. albus* Del14  $\Delta$ *rsmG*/P91S і *S. albus* Del14  $\Delta$ *rsmG*/R94G будуть перевірятися на рівень експресії кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів.

**Скубіш І., Горбулінська С.**

**ТЕХНОЛОГІЯ ПРОДУКТИВНОГО НАВЧАННЯ ГЕНЕТИКИ У  
ЗАГАЛЬНООСВІТНІЙ СЕРЕДНІЙ ШКОЛІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: vira\_b87@ukr.net*

**Skubish I., Gorbulska S. TECHNOLOGY OF PRODUCTIVE TEACHING OF GENETICS IN IN SECONDARY SCHOOL.** Productive learning technology provides a transition from traditional learning as the transfer of knowledge to a student to productive education. This is a subject-oriented technology, which aims to teach for a complete, target result and practical self-realization of each student. The innovativeness of productive learning technology is determined by the fact that it ensures the creation of a real, concrete educational product, as an achievement of the individual.

Технологія продуктивного навчання забезпечує перехід від традиційного навчання як передачі знань учню до продуктивної освіти. Це предметно-орієнтована технологія, суть якої полягає у спрямованості навчання на завершений, цілісний результат і практичну самореалізацію кожного учня. Інноваційність технології продуктивного навчання обумовлюється тим, що вона забезпечує створення реального, конкретного освітнього продукту, як здобутку особистості. Технологія продуктивного навчання є актуальною, оскільки забезпечує розвиток учня у професійній, освітній, соціальній сферах, отримання конкретного продукту як результату набуття життєвих навичок та самостійної навчальної діяльності учнів.

До основних концептуальних положень технології продуктивного навчання відносять принцип особистісної орієнтації освіти, під час якого у пріоритеті інтересів

дитини є допомога, захист, підтримка. Принцип інтегративного підходу, що являє собою поєднання у єдиний процес всіх аспектів навчання. Принцип рефлексивного самоконтролю учнів це вибір більшості елементів навчання. Принцип індивідуалізації та навчання через дію у якому пріоритетом інтересів учня є знання як засіб досягнення мети продуктивної діяльності.

У технології продуктивного навчання є 2 тенденції впровадження даного підходу у практику освіти. Перша — отримання продукту навчання «поза» школою, являє собою альтернативу класно-урочній системі — максимальне наближення практичної діяльності учнів до умов реальних робочих місць у соціумі. Друга тенденція — це отримання продукту «всередині» школи, коли принципи продуктивного навчання реалізуються на заняттях, у лабораторіях, на робочих місцях у межах навчального закладу. Найефективніші практичні види діяльності технології продуктивного навчання це: різнорівневі тестування, творчі індивідуальні та групові проекти, взаємонавчання та взаємоконтроль у парах, виконання завдань практичного характеру та рейтинговий контроль. До основних методів організації продуктивного навчання належать: мозковий штурм, метод рецензій, метод нормотворення, метод багатовимірних матриць. Метод проектного навчання поєднує активну самостійну навчальну діяльність учня з трудовою діяльністю для створення освітнього продукту.

Отже, продуктивний урок генетики відрізнятиметься від традиційного уроку, адже буде включати в себе: налаштування на роботу, актуалізацію минулих вже отриманих знань, сприйняття нового матеріалу та завершальний етап — рефлексію, коли учень розповідає власне розуміння засвоєного матеріалу. Навчальний процес здійснюється шляхом інтерактивної взаємодії та роль вчителя на уроці полягає у наданні своєчасної допомоги і керуванні навчальною діяльністю учнів.

**Шмигельська С., Ткачук М.-М., Матійців Н.**

**МОДЕЛЮВАННЯ ІНДУКОВАНОЇ ОРГАНОФОСФАТАМИ НЕЙРОПАТІЇ  
НА *DROSOPHILAMELANOGASTER***

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: solomiia.shmyhelska@lnu.edu.ua*

**Shmyhelska S., Tkachuk M.-M., Matiytsiv N.** MODELING ORGANOPHOSPHATE-INDUCED DELAYED NEUROPATHY IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* Certain neuropathies occur after exposure to toxic substances. For instance, an impact of some organophosphates (OP), found in agricultural pesticides, can result in the development of an organophosphate-induced delayed neuropathy (OPIDN). We aimed to study the sensitivity of adult *D. melanogaster* wild-type *Oregon-R* and *sws* mutant flies to a tri-*o*-cresyl phosphate (TOCP) and a mixture of tricresyl phosphate isomers. The results showed the delayed toxic effect of 72 mg/ml TOCP on *Oregon-R* as well as 64 mg/ml tricresyl phosphate mixture on *Oregon-R* and *sws* mutants.

Орґанофосфат-індукована відтермінована нейропатія (OPIDN) – це дегенеративний синдром, що виникає внаслідок впливу деяких фосфорорґанічних сполук, зокрема і три-орто-крезилфосфату (ТОСР), який входить до складу пестицидів, пластифікаторів, антипіренів. OPIDN супроводжується аксонопатією (відмиранням аксонів, починаючи від їх дистального кінця), що призводить до прогресуючої слабкості кінцівок, аномальних рефлексів та паралічу, які зазвичай виникають через декілька тижнів після отруєння. Первинною молекулярною

мішенню, що пов’язана з розвитком OPIDN є білок нейротоксична естераза (NTE) (Richardson et al.). У *Drosophila melanogaster* його ортологом є білок SWS (Kretschmar et al., 1997).

Метою роботи було порівняти вплив різних концентрацій три-орто-крезилфосфату (ТОСР) та суміші ізомерів трикрезилфосфату на виживання та структуру мозку особин *D. melanogaster*. У дослідженні ми використали самців лінії *sws<sup>1</sup>* – «нульовий» мутант за геном *sws*, у якого відсутній функціональний продукт даного гена (з колекції проф. Д. Кречмар). Контролем слугувала лінія дикого типу *Oregon-R*. Завдання полягало у тому, щоб підібрати ефективні концентрації для моделювання OPIDN.

Суміш ізомерів трикрезилфосфату (Acros Organics) та ТОСР (TCI America) згодовували 5-денним самцям кожної лінії у зростаючих концентраціях. Органофосфат попередньо розчиняли в етанолі у співвідношенні 1:5 та доводили до необхідної концентрації за допомогою 10% розчину сахарози та 1% розчину дріжджового екстракту. Розчин сахарози та дріжджового екстракту з додаванням етанолу слугував в якості контрольного середовища. Самців розсаджували в пробірки по 10 особин. Після доби згодовування, мух пересаджували на стандартне середовище та пересипали кожного дня протягом 14 діб. Підрахунок мертвих мух проводили кожні 2 дні. Статистичну обробку здійснено за допомогою GraphPad Prism 8, достовірність перевіряли за допомогою Log-rank тесту.

Було встановлено достовірне зниження відсотка виживання особин *Oregon-R* після впливу ТОСР за концентрації 72 мг/мл, порівняно з особинами, що перебували на контрольному середовищі ( $P = 0,0201(*)$ ). Після впливу суміші ізомерів достовірне зниження виживання спостерігали уже при концентрації 64 мг/мл, як у лінії дикого типу ( $p = 0,001(***)$ ), так і у мутантів за геном *sws* ( $p = 0,0004(****)$ ). Під час аналізу тканин мозку, дегенеративні зміни були виявлені у 11% особин *Oregon-R* за впливу 72 мг/мл три-орто-крезилфосфату та у 20% за впливу 64 мг/мл суміші ізомерів трикрезилфосфату.

Поєднання особин дикого типу та мутантів *sws* є ідеальною модельною системою для вивчення механізмів впливу нейротоксичних фосфорорганічних сполук. У подальших дослідженнях ми плануємо виявляти фізіологічні аспекти, клітинні та молекулярні механізми розвитку OPIDN на нашій моделі

**Ященко А., Любчикова Д.**

#### ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК НА ПОКАЗНИКИ ІНДУКОВАНИХ МУТАЦІЙ В ПОПУЛЯЦІЇ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка

вул. Гетьмана Полуботка, 53, 14037 м. Чернігів, Україна

e-mail: mekhedolga@gmail.com

**Yashchenko A., Lyubchykova D.** INFLUENCE OF NANOPARTICLES ON INDICATORS OF INDUCED MUTATIONS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* POPULATION. In the presence of nanoparticles in the nutrient medium, the following mutations were observed in flies: reduced wings and a discoloured (white) body, as well as additional antennae and an elongated proboscis. When studying the mutational effect of nanoparticles in the offspring of both generations (F1 and F2), differences in the quantitative indicators of mutant individuals in males and females under the influence of the same substances are unlikely. Ti nanoparticles have a more pronounced mutagenic effect compared to others.

Останніми роками значно посилюється інтерес до ролі наночастинок, зокрема досліджується їх властивість впливати на мутагенез. Вивчення дії наночастинок на функціонування еукаріот на прикладі тест-об'єкту *Dr. melanogaster* використовується для оцінки можливих екологічних наслідків за їх практичного використання. Мета роботи: дослідити вплив наночастинок Титану, Нікелю та Силіцію на особливості розвитку та мутагенез у *Dr. melanogaster*. Об'єкт дослідження: особливості розвитку мух виду *Dr. melanogaster* лінії *Canton S*. Предмет дослідження: вплив наночастинок Титану, Нікелю та Силіцію на розвиток мух виду *Dr. melanogaster* лінії *Canton S*.

Наночастинки володіють значно більш вираженою фармакологічною активністю, але в той же час й більш вираженою токсичністю порівняно зі звичайними мікрочастками. За наявності у поживному середовищі наночастинок у мух спостерігались наступні мутації: редуковані крила і знебарвлене (білого кольору) тіло також додаткові антени і видовжений хоботок. При дослідженні мутаційного впливу наночастинок у нащадків обох поколінь (F1 та F2) відмінності кількісних показників мутантних особин у самців та самок за впливу однакових речовин не вірогідні. Наночастинки Ті мають більш виражену мутагенну дію порівняно із іншими.

**Barkhatova A., Koshla O., Stepanyshyn A., Yushchuk O., Fedorenko V.**  
VERIFYING EFFICIENCY OF CONJUGAL TRANSFER FOR DIFFERENT  
ACTINOPHAGE-BASED VECTORS INTO NOGALAMYCIN PRODUCER  
*STREPTOMYCES NOGALATER* IMET 40284

*Ivan Franko National University of Lviv*  
4 Hrushevsky srt., Lviv, 79005, Ukraine  
e-mail: [anastasiia.barkhatova@lnu.edu.ua](mailto:anastasiia.barkhatova@lnu.edu.ua)

*Streptomyces nogalater* IMET 40284 is known as the producer of peculiar anthracycline antibiotic nogalamycin. This drug showed certain efficiency against different types of cancer cell lines, but, unfortunately, did not find any application in clinics due to high cardiotoxicity. The biosynthetic pathway of nogalamycin is fairly understood (Siitonen et al., 2011) and the corresponding biosynthetic gene cluster was already sequenced and annotated (Torkkell et al., 2001). However, a different aspect of *S. nogalater* biology drew our attention. Older works (Klymyshyn et al., 2007) show that it is impossible to deliver vectors based on the actinophage  $\phi$ C31 integration system into *S. nogalater*. To our best knowledge, this is a single example of *Streptomyces* spp. with a non-functional  $\phi$ C31-based integration system, which remains a platform of choice for gene expression in antibiotic-producing streptomycetes. Therefore, in the current work, we decided to apply a wider range of conditions to identify whether  $\phi$ C31-based vectors might be delivered to *S. nogalater* after all.

Thus, we applied a set of three integrative vectors, based on  $\phi$ C31, VWB and  $\phi$ BT1 integration systems. These were pSAGA, pSoAGA2, and pRAGA1 (Yushchuk et al., 2020), respectively; each vector carried an *aac(3)IVp-gusA* reporter cassette, granting the recombinants' ability to convert 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (X-Gluc) into colored 5,5'-dibromo-4,4'-dichloro-indigo. Wild type *S. nogalater* was unable to convert X-Gluc, meaning that such reporter cassette would be useful to instantly verify all recombinants as carrying desired vectors (and exclude spontaneous apramycin-resistant mutants) by simply adding X-Gluc to the overlay. As shown before (Klymyshyn et al., 2007) VWB- and  $\phi$ BT1-based vectors pSoAGA2 and pRAGA1 were readily transferrable to

*S. nogalater*. All obtained pSoAGA2<sup>+</sup> and pRAGA1<sup>+</sup> transconjugants were able to convert X-Gluc, implying the absence of spontaneous apramycin-resistant mutants. Following conditions for conjugal transfer were tested for pSAGA: the number of recipient spores (up to 10<sup>9</sup>); agar medium (SFM or ISP3); MgCl<sub>2</sub> concentration (from 0 to 40 mM); temperature shock conditions of recipient spores; time period prior to overlay (up to 18 h). Alas, neither of those was able to support the conjugative transfer of ϕC31-based pSAGA into *S. nogalater*.

Our results stand in line with the ones obtained earlier: at any tested conditions, we were unable to deliver a ϕC31-based vector into *S. nogalater*, implying that conjugal efficiency is not low, but equals zero. Our next step would be to sequence and assembly the genome of *S. nogalater* IMET 40284 in order to reveal genomic features impeding the proper function of the ϕC31-based integration system.

**Duban R.<sup>1</sup>, Zhukrovska K.<sup>1</sup>, Stepanyshyn A.<sup>1</sup>, Yushchuk O.<sup>1</sup>, Kalinowski J.<sup>2</sup> and Fedorenko V.<sup>1</sup>**

***STREPTOMYCES SP.* LEO-A14 AND *STREPTOMYCES SP.* LEO-V104: NEW STRAINS WITH POTENT ANTIMICROBIAL PROPERTIES ISOLATED FROM GARDEN SOIL IN LVIV, UKRAINE**

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

<sup>2</sup>*University of Bielefeld, CeBiTec,  
Universität St., 25, 33615, Bielefeld, Germany  
e-mail: dubanroksolana@gmail.com*

Antibiotics are natural or synthetic molecules, capable to inhibit or terminate the growth and proliferation of microorganisms (bacteria, filamentous fungi, protozoans, *etc.*). Works of Selman Waksman highlighted streptomycetes – filamentous soil-dwelling Gram-positives – as a virtually unlimited source of natural antibiotics. Active exploitation of *Streptomyces* spp. led to the “Golden Age” of antibiotics. Certain classes of compounds were used also in veterinary and as animal growth promoters. This led to the pollution of natural environments with antibiotics coming from hospital, community and industrial wastewaters. Wide and often unreasonable utilization of antibiotics had serious consequences: antibiotics started to shape genomes of facultative and obligate pathogens, as well as environmental metacomposition, leading to the accumulation and spread of resistance genes. Antimicrobial resistance (AMR) rendered many successful classes of antibiotics ineffective, making it crucial to discover novel antimicrobials with unprecedented modes of action.

In the course of routine isolation of novel soil actinomycetes from urban biotopes in Lviv, Ukraine, two strains drew our special attention. These strains were named Leo-V104 and Leo-A14 and exhibited typical streptomycete-like morphology. However, more important were the antimicrobial properties of Leo-V104 and Leo-A14. In particular, when cultivated on 17 various solid media, Leo-A14 produced some natural compounds active against four assay cultures: *Debaryomyces hansenii* (*Saccharomycetales*), *Streptomyces albus* (Gram-positive), *Escherichia coli* (Gram-negative), and *Bacillus subtilis* (Gram-positive). Production was medium-dependent, and the best antimicrobial properties were observed on ISP6 and TM1 media. Leo-V104 appeared to inhibit the growth of six assay strains: *D. hansenii*, *S. albus*, *E. coli*, *B. subtilis*, as well as *Acinetobacter johnsonii*, and *Proteus vulgaris* (both Gram-negative). Here antibiotic production was also medium dependent, and the best antimicrobial properties were observed in the R5 medium.

To understand the taxonomic position of these strains better, we sequenced corresponding 16S rRNA genes. When compared to the reference database, the 16S rRNA gene of Leo-A14 appeared to share similarity with 16S rRNA genes of *Streptomyces xanthophaeus* NRRL B-5414 (99.15%), *Streptomycesnojiriensis* LMG 20094 (99.15%), and *Streptomyces spororaveus* LMG 20313 (99.15%). 16S rRNA gene of Leo-V104 was most similar to counterparts from *Streptomyces globosus* LMG 19896 (98.94%) and *Streptomyces toxytricini* NBRC 12823 (98.94%). Thus, both strains belong to the genus *Streptomyces*, justifying their description as *Streptomyces* sp. Leo-A14 and *Streptomyces* sp. Leo-V104.

To conclude, in the current work we describe two novel soil isolates – *Streptomyces* sp. Leo-A14 and *Streptomyces* sp. Leo-V104 – able to inhibit the growth of Gram-positive, Gram-negative bacteria and fungi. Our next step would be the sequencing of their genomes in order to identify putative antibiotic biosynthetic gene clusters. Whole-genome sequencing will also allow identifying whether these strains might represent novel *Streptomyces* species, laying the foundation for the proper taxonomic description of new standing names.

**Serikova M.<sup>1</sup>, Kachor A.<sup>2</sup>, Ostash I.<sup>2</sup>, Rebets Y.<sup>2</sup>**

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ACTINOBACTERIA  
FROM RHIZOSPHERE SOIL OF PERSIAN WALNUT *JUGLANS REGIA* L.

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

<sup>2</sup>*Explogen LLC  
12 Zelena St., Lviv, 79005, Ukraine  
e-mail: rita.serikova.120301@gmail.com*

The rhizosphere of a plant is usually formed by the root system with stable associations of microorganisms, including actinobacteria. At the same time, plant roots release nutrients into the soil, thereby stimulating active colonization of the microbiota. Soil-dwelling actinobacteria are well-known producers of natural products with diverse biological activities, but the rediscovery of already known compounds from isolated cultures of actinobacteria complicates the application of classical approaches to the discovery of new drugs. One of the solutions to this problem is the search and isolation of actinobacteria from new atypical ecological communities. In this work we have investigated the potential of the root microbiome of *Juglans regia* L. seedlings planted in traditional way and treated with the Mykovital. Mykovital is a culture of vegetative cells of mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum* VS 1223. Mykovital stimulates growth and development of plants and increases their resistance to diseases (Oliferchuk et al., 2022).

Therefore, our work aimed to analyze the effect of different sample preparation methods and types of medium on actinobacteria genus diversity in the soil of the rhizosphere of Persian walnut without and after treatment with Mykovital.

Actinomycetes were isolated from soil samples collected from the rhizosphere of seedlings of *Juglans regia* L., planted in 2015 in the Dnipro nursery, Novoukrainske village, Dnipropetrovsk region. Part of the seedlings in 2018 was treated with Mykovital. Samples were taken from treated and untreated plants.

For isolation of actinobacteria four different methods of soil preparation were used: direct inoculation; incubation at 65 °C for 30 minutes; treatment with 1.5% aqueous phenol solution; and treatment with 1% SDS and 1% humic acid. The 10<sup>-2</sup>-10<sup>-4</sup> dilutions of soil suspensions were plated on Petri dishes with 6 different selective media (ISP3, MS, ATCC 172, medium 2 Gause, R2A, HVA) with the addition of cycloheximide (50 µg/ml) and

fosfomycin (50 µg/ml). Plates were incubated at 28 °C for 30 days. Altogether, 155 strains of actinobacteria were isolated from both samples. Each isolate was identified by 16S rRNA gene sequencing to the genus level. As a result, isolates belonging to genera *Streptomyces* (49), *Micromonospora* (4), *Nocardia* (3), *Nonomuraea* (2), *Kribbella* (2), *Actinomadura* (1) were identified from used samples.

The recovered strains were of interest as potential producers of biologically active compounds, so they were tested for inhibition of growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as for DNA-binding activity. As a result, about 30% of the isolates exhibited antagonistic activity against *Kocuria rhizophila* DSM 348. None of the strains inhibited the growth of *Pseudomonas putida* KT 2440, 5 strains produced compounds that interact with DNA.

Summarizing the results obtained the efficiency of isolation of actinobacteria and their phylogenetic diversity strongly depends on the composition of the medium and the method of soil treatment. Majority of obtained strains were isolated using 1% SDS and 1% humic acid samples preparation approach. At the same time, phenol treatment or heating reduced the number of isolates. Besides, no significant difference was observed between soil samples treated with Mykovital and untreated neither in number nor distribution of genera of isolated actinobacteria. Further details of this work will be presented.

**Stepanyshyn A.<sup>1</sup>, Yushchuk O.<sup>1,2</sup>, Marinelli F.<sup>2</sup>, Kalinowski J.<sup>3</sup>, Fedorenko V.<sup>1</sup>**

EXPRESSION OF PATHWAY-SPECIFIC REGULATORS FROM DALBAHEPTIDE BIOSYNTHETIC GENE CLUSTERS INDUCES ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF *AMYCOLATOPSIS BARTONIAE* DSM 45807

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv*

*Hrushevskogo Str., 4, Lviv, 79005, Ukraine*

<sup>2</sup>*University of Insubria, Faculty of Biotechnology and Life Sciences,*

*Dunant St., 3, 21100, Varese, Italy*

<sup>3</sup>*University of Bielefeld, CeBiTec, Universität St., 25, 33615, Bielefeld, Germany.*

*e-mail: nastia.stepanyshyn@gmail.com*

Glycopeptide antibiotics (GPAs) are non-ribosomal peptides inhibiting cell-wall biosynthesis in Gram-positive bacteria. Biosynthesis of these compounds are coded within biosynthetic gene clusters (BGCs). The most important group among GPAs are dalbaheptides – glycosylated and/or lipidated heptapeptides, able to strongly bind lipid II and thus terminate cell-wall biosynthesis. Although dalbaheptides are efficient in clinics, resistant pathogens already emerge. Thus, it is important to search for novel dalbaheptides. In our previous work (Andreo-Vidal et al., 2021), we performed a phylogenomic study of dalbaheptide resistance genes within the *Actinobacteria* phylum. This led to the discovery of new putative dalbaheptide BGCs. One of those was discovered in *Amycolatopsis bartoniae* DSM 45807, order *Pseudonocardiales*. To our best knowledge, this strain was not studied before. The available draft of DSM 45807 genome is of low quality, making the prediction of the dalbaheptide biosynthetic pathway impossible. To test if DSM 45807 is able to produce dalbaheptide, we decided to overexpress a set of pathway-specific regulatory genes, coding for StrR-like regulators in model dalbaheptide BGC. These are key positive regulatory genes responsible for antibiotic production. Our recent results indicate that such regulators are likely conserved enough to cross-talk between different biosynthetic pathways. Thus, we assumed that overexpression of such genes in DSM 45807 might induce antimicrobial properties, indirectly hinting that the dalbaheptide biosynthetic pathway is intact.



To this aim, we cloned *vtr* (vancomycin BGC, *Amycolatopsis orientalis*), *tei15\** (teicoplanin BGC, *Actinoplanes teichomyceticus*), *dbv4* (A40926 BGC, *Nonomuraea gerenzanensis*), as well as a native regulatory gene from DSM 45807, via *EcoRI/XbaI* sites into pTES (Herrmann et al., 2012), generating pTEVR, pTET15\*, pTED4, and pTEBR, respectively. Genes of interest were placed under the control of a strong constitutive *ermEp* promoter, used for gene expression in *Amycolatopsis* spp.

Next, we developed a conjugal transfer protocol to deliver these plasmids into DSM 45807. A standard protocol (Kieser et al., 2000), involving non-methylating *Escherichia coli* ET12567 pUZ8002<sup>+</sup> as a donor and DSM 45807 spores as recipient cells, was tested. We discovered that best sporulation of DSM 45807 is achieved on ISP5 medium (as confirmed using scanning electron microscopy). Approx. 10<sup>8</sup> gathered spores were mixed with 10<sup>9</sup> donor cells carrying desired vectors and plated on SFM medium supplemented with 20 mMol of MgCl<sub>2</sub>. The transfer rate was *ca.* 10<sup>-7</sup>.

Generated pTEVR<sup>+</sup>, pTET15\*<sup>+</sup>, pTED4<sup>+</sup>, and pTEBR<sup>+</sup> recombinants were cultivated on different media along with the wild type. The antimicrobial properties of these strains were accessed in an agar-plug *Bacillus subtilis* HB0950 (Mascher et al., 2004) growth inhibition assay. HB0950 gives a chromogenic reaction in presence of lipid II binding antibiotics, which include dalbaheptides. We discovered that the wild type lacks any antimicrobial properties when cultivated on SG2 and TM1 media, while pTET15\*<sup>+</sup> recombinant is able to inhibit the growth of HB0950. The chromogenic reaction of HB0950 also indicated that *A. bartoniae* pTET15\*<sup>+</sup> likely produces some lipid II binder.

Our results indicate that DSM 45807 is likely capable to produce yet unknown dalbaheptide and deserves further investigation. The next step would be to sequence the genome of DSM 45807.

**Zhukrovska K., Binda E., Yushchuk O., Marinelli F., Fedorenko V.**  
APPROACHES FOR *ACTINOPLANES RAMOPLANINIFER* ATCC 33076  
FERMENTATION AND QUANTITATIVE ESTIMATION OF RAMOPLANIN  
PRODUCTION LEVELS

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

<sup>2</sup>*University of Insubria, Faculty of Biotechnology and Life Sciences,  
Dunant St., 3, 21100, Varese, Italy.  
e-mail: k.zhukrovska@gmail.com*

Frequent use of antibiotics has led to the emergence of multiple multidrug-resistant (MDR) pathogens. The spread of bacteria resistant to most or all known antibiotics raises concerns about the possibility of a global infectious disease crisis. One promising antibiotic that can help in the treatment of infections caused by MDR Gram-positive bacteria is the non-ribosomal lipoglycopeptide ramoplanin, produced by the soil-dwelling "rare" actinobacteria *Actinoplanes* sp. ATCC 33076, recently reclassified as *A. ramoplaninifer* (Marcone, 2017). Ramoplanin inhibits cell wall biosynthesis by blocking the conversion of lipid intermediate II into lipid II, a step specifically catalyzed by N-acetylglucosaminyl transferase (Unni, 2021). Such a unique mechanism of action ensures the absence of cross-resistance with other clinically in-use inhibitors of peptidoglycan biosynthesis, such as vancomycin and teicoplanin.

55 strains of actinomycetes have been identified as possible producers of ramoplanin-related compounds (de la Cruz, 2017). However, except ramoplanin, the chemical structure of only two related antibiotics is known today: enduracidin, which is produced by

*Streptomyces fungicidicus* ATCC 21013, and the recently discovered chersinamycin, which is produced by *Micromonospora chersina* DSM 44151 (Morgan, 2021). Moreover, despite these compounds being promising antibiotics, the mechanisms of ramoplanin biosynthesis and its transcriptional control have not been sufficiently studied.

The study of the regulatory genes present in the cluster is key to understanding the mechanisms governing ramoplanin biosynthesis. In further investigation of the role of these genes, we needed to establish the method for fermentative production and quantitative measurement of ramoplanin in the wild-type strain.

Based on the data available in the literature (Brunati, 2005) we tested different parameters in order to optimize ramoplanin production. In all these experiments, we monitored the growth of the strain by measuring broth pH, level of residual glucose, wet weight, PMV (packed mycelia volume), and dry weight by sampling the cultures every 24 h. In addition, all these samples were tested for antimicrobial activity towards *Bacillus subtilis* HB0950, a reporter strains previously used in growth inhibition assays for ramoplanin-like compounds (de la Cruz, 2017). As a result, we set up the protocol for fermenting the wild-type strain in ramoplanin production industrial medium (PB) at the flask scale in an orbital shaker.

Also, we needed to establish a suitable method for rapid and high-throughput quantification of ramoplanin production. Among all tests, extraction with an initial decrease of pH to 3-3.5 (controlled by the addition of 10 N HCL) and subsequent addition of a mixture of methanol-isopropanol (5:1) was the most successful according to the results obtained by the antimicrobial bioassay method (using *B. subtilis* HB0950 as a test culture) and HPLC.

The method for HPLC analysis was also established following the available literature with some modifications. First, we built a calibration curve based on the response of the HPLC instrument (peak area) to the set of ramoplanin standards with known concentration. We also built another calibration curve based on the *B. subtilis* HB0950 growth inhibition zones' diameters, induced with predefined amounts of ramoplanin.

Once the conditions for the antibiotic production, extraction, and quantitative ramoplanin analysis were standardized, it finally allowed us to properly estimate ramoplanin production levels in recombinant strains overexpressing probable regulatory genes from the ramoplanin biosynthetic gene cluster. This work is underway.

## ЕКОЛОГІЯ ECOLOGY

**Борецька І., Джура Н.**

ВПЛИВ ТЕХНОГЕННО ЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ І ГУМАТІВ  
НА РІСТ *MELILOTUS OFFICINALIS* L. Pall.

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: ira.boretska2017@gmail.com*

**Boretska I., Dzhura N.** INFLUENCE OF TECHNOLOGICALLY CONTAMINATED SOILS AND HUMATES ON GROWTH *MELILOTUS OFFICINALIS* (L.). Pall. Emphasis is placed on energy crop. Fertilizers that can increase the resistance of plants to various adverse factors and restore soil fertility are considered. A comprehensive approach to ecological remediation of technogenically polluted soils has been studied.

Проблема техногенного забруднених ґрунтів та їх подальшого використання потребує вирішення. Самовідновлення ґрунту є процесом дуже повільним, на який людина має незначний вплив. Здійснювати рекультивацію забруднених земель необхідно розпочинати з розробки способів їх використання в агропромисловому виробництві, що дозволили б якнайшвидше відновлювати такі землі та отримувати з них безпечну продукцію. Основними видами техногенних забруднень сільськогосподарських угідь (за поширеністю та площею) є забруднення пестицидами, важкими металами та нафтопродуктами (Грабак, 2014).

*Melilotus officinalis* (L.) Pall. – дворічна трав'яниста рослина з родини бобових, найкращий азотфіксатор, добре підходить для сівозмін півдня, її можна використовувати як сидерат, а це збагачує ґрунт азотом. Метою дослідження було вивчення впливу техногенно забруднених ґрунтів і гуматів на ріст *Melilotus officinalis* як енергетичної культури.

Для досліджень використовували техногенно забруднені ґрунти, відібрані у смт. Великий Любінь: ґрунт №1, відібраний біля автотраси зі сполученням Львів – Самбір і ґрунт №2, відібраний з території автосервісу. Досліди закладали в лабораторно-польових умовах влітку 2022 року. У вегетаційні посудини, заповнені ґрунтом висаджували попередньо замочене у воді (варіанти 1, 2, 5) і відповідно – у розчинах препаратів гуміфілд форте і фульвітал плюс (0,2 г на 1 л води) (варіанти 3, 4, 6, 7) насіння рослин *M. officinalis* за схемою: № 1 – контроль (умовно чистий ґрунт) + *M. officinalis*; № 2 – техногенно забруднений ґрунт №1 + *M. officinalis*; № 3 – техногенно забруднений ґрунт №1 + *M. officinalis* + гуміфілд форте; № 4 – техногенно забруднений ґрунт №1 + *M. officinalis* + фульвітал плюс; № 5 – техногенно забруднений ґрунт №2 + *M. officinalis*; № 6 – техногенно забруднений ґрунт №2 + *M. officinalis* + гуміфілд форте; № 7 – техногенно забруднений ґрунт №2 + *M. officinalis* + фульвітал плюс. Після появи сходів і надалі кожні 10-14 днів рослини обприскували гуміновими препаратами. За результатами досліджень виявлено, що енергія проростання насіння *M. officinalis* на 7-ий день у варіантах 2, 3, 4, 6 становила 40,0; 35,0; 35,0 і 45,0% відповідно, тоді як у варіанті 5 – 25,0%. Варто відмітити позитивний вплив намочування насіння у гуматах (гуміфілд форте та фульвіталі плюс). Облік сходів на 14-ий день після висіву показав, що схожість насіння коливалася в межах

від 35,0% (варіант 7) до 75,0% (варіант 2). Схожість насіння у контролі становила 45,0%, тоді як у варіантах 2, 3, 4 досліджуваний показник становив 75,0; 65,0 і 60,0% відповідно. Ростові показники *M. officinalis* змінювалися не суттєво: на 36-ий день вегетації на техногенно забрудненому ґрунті № 1 висота пагона і довжина кореня рослин були дещо нижчими порівняно з контролем, а на техногенно забрудненому ґрунті №2, за впливу гуміфілд форте і фульвітал плюс, досліджувані показники збільшувалися (варіанти 6 і 7 відносно варіанту 1).

Отже, використання гуматів (гуміфілд форте і фульвітал плюс) для замочування насіння і обприскування надземної частини *M. officinalis* у процесі вегетації покращувало загальну життєздатність рослин в умовах техногенно забруднених ґрунтів. Отримані результати є інформативними для проведення подальших досліджень у польових умовах і при розробці фіторе mediaційних технологій для відновлення деградованих ґрунтів.

**Борецька І.<sup>1</sup>, Романюк О.<sup>2</sup>**

**РОЗРОБКА ФІТОРЕМЕДІАЦІЙНИХ КОМПОЗИЦІЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ ҐРУНТІВ,  
ЗАБРУДНЕНИХ НАФТОЮ ТА ЇЇ ПОХІДНИМИ**

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

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

e-mail: ira.boretska2017@gmail.com

<sup>2</sup>Відділення фізико-хімії горючих копалин

Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України

вул. Наукова, 3а, м. Львів, 79022, Україна

e-mail: romaniuk@ua.fm

**Boretska I.<sup>1</sup>, Romanyuk O.<sup>2</sup> DEVELOPMENT OF PHYTOREMEDIATION COMPOSITIONS FOR CLEANING SOILS CONTAMINATED BY OIL AND ITS DERIVATIVES.** Emphasis is placed on the phytoremediation potential of the bean plant and the phytoremediation composition of beans with seeded oats (*Avena sativa* L.) in the restoration of soils contaminated with oil and its derivatives. His complex approach of environmental remediation of oil-contaminated soils is studied.

Екологічні проблеми пов'язані з забрудненням ґрунтів нафтою, нафтопродуктами, дизельним паливом та іншими паливно-мастильними матеріалами набули особливої актуальності в час воєнних дій на території України і потребують термінового і ефективного вирішення.

Досліджено фіторе mediaційний потенціал рослин бобу (*Vicia faba* L.) та фіторе mediaційної композиції бобу з вівсом посівним (*Avena sativa* L.) у відновленні ґрунтів, забруднених нафтою (1-15%) та її похідними (1,5%).

Вивчено вплив вуглеводнів різної будови з різною довжиною вуглеводневого ланцюгу (толуол, циклогексан, октан, ізо-октан, ундекан) на ріст рослин *V. faba* та зниження токсичності забрудненого ґрунту. Показано зростання схожості насіння рослин *V. faba* в умовах забруднення ґрунту похідними нафти (1,5%): толуолу – на 13%, циклогексану – на 7%, октану – на 16%, ундекану – на 3%, відносно контролю та стимулювання росту кореня бобу вдвічі за дії октану та пагона на 10 % за дії ізо-октану. Доведено, що рослини *V. faba* прискорюють процес біодеградації нафти у ґрунті. За низьких концентрацій нафти 1%, ґрунт очистився на 100%; за дії нафти 2% сумарне очищення ґрунту становило 92%, а за дії нафти 5% і 10% – 70 і 61,7% відповідно.

Встановлено, що спільне зростання *V. faba* з *A. sativa* на нафтозабруднених ґрунтах, підвищує стійкість рослин *A. sativa* та *V. faba* на різних етапах розвитку і росту, що проявляється у збільшенні морфометричних показників *A. sativa*: довжини кореня на 67%, висоти пагона на 30%, вмісту фотосинтетичних пігментів у листках на 16-25%. Розроблено фітореMediaційну композицію *V. Faba* + *A. sativa* (1: 20-50), що забезпечує високий 85% ступінь очищення ґрунтів від нафтового забруднення (5%) без додаткового внесення добрив та інших агентів ремедіації.

**Гайдучок О., Походжук В., Микієвич І., Цвілинюк О.**

РОСТОВІ ПОКАЗНИКИ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ СОРТУ МИРОНІВСЬКА 65  
ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЗАСТОСУВАННІ ПОЖИВНИХ РЕШТОК І  
МІКРОБІОЛОГІЧНОГО ПРЕПАРАТУ OAZIS-M1

Львівський національний університет імені Івана Франка  
79005, вул. Грушевського, 4, Львів, Україна  
e-mail: Veronika\_Pozhodzhuk@outlook.com

**Haiduchok O., Pozhodzhuk V., Mykiiievych I., Tsvilinyuk O.** GROWTH PERFORMANCE OF THE WINTER SOFT WHEAT VARIETY MYRONOVSKA 65 WITH THE COMPLEX APPLICATION OF NUTRIENT RESIDUES AND MICROBIOLOGICAL PREPARATON OAZIS-M1. Combined application of Oasis-M1 and buckwheat nutrient residues stimulates growth of winter soft wheat in sandy soil in a model experiment. In field studies, the combination action of the preparation and nutrient residues of corn and soybeans in a 1:1 ratio increases not only the height, but also the coefficient of tillering of winter wheat plants. And this leads to an increase in the projective coverage of the soil by wheat plants and a decrease in the degree of weed infestation.

В Україні відбувається скорочення поголів'я великої рогатої худоби (ВРХ), яке є основним споживачем пожнивних решток (ПР) сільськогосподарських рослин. Перспективним напрямом є використання ПР у комплексі з ефективними мікроорганізмами (ЕМ) як оргдобриво для сільськогосподарських угідь.

Вивчали вплив нового мікробіологічного препарату Oasis-M1 сумісно з ПР на ріст рослин пшениці озимої м'якої (*Triticum aestivum* L.) сорту Миронівська 65 у модельному і польовому досліді. Для модельних досліджень пісковий ґрунт з узлісся соснового лісу закладали у горщики об'ємом 2 л. Ґрунт у кожному горщику на 50% покривали подрібненими ПР, додавали препарат Oasis-M1 (26.11.2019 р.), розведений згідно з інструкцією за схемою: пісковий ґрунт (контроль); пісковий ґрунт + ПР кукурудзи; пісковий ґрунт + ПР гречки; пісковий ґрунт + ПР кукурудзи + Oasis-M1; пісковий ґрунт + ПР гречки + Oasis-M1. Горщики залишали в умовах відкритого ґрунту. Польові дослідження проводили у с. Гійче, Львівського району, Львівської області на дерново-підзолистому ґрунті площею 130 м<sup>2</sup> за схемою: дерново-підзолистий ґрунт (контроль); дерново-підзолистий ґрунт з ПР кукурудзи і сої у співвідношенні 1:1; дерново-підзолистий ґрунт з ПР кукурудзи і сої у співвідношенні 1:1 + Oasis-M1. Проективне покриття ґрунту ПР складало 50%. Рослини вимірювали 17.05.2021 р. і 14.07.2021 р. Коефіцієнт продуктивного кушіння встановлювали за загальноприйнятою методикою.

Модельні дослідження показали, що ростові показники рослин *T. aestivum* різних варіантів досліду були на рівні контролю. За виключенням варіанту з сумісною дією ПР гречки і Oasis-M1, де висота надземної частини пшениці перевищувала контроль на 27%.

Для польових досліджень використали суміш ПР кукурудзи і сої, оскільки модельні дослідження засвідчили, що ПР кукурудзи у комплексі з досліджуваним мікробіологічним препаратом є мало ефективними для посівів озимої пшениці. Виявили, що проєктивне покриття поля рослинами пшениці, яке залежить від коефіцієнту куціння цих рослин. при застосуванні ПР підвищувався до 1,18 у порівнянні з контрольним варіантом (1,11), і найвищим був за сумісної дії ПР і препарату Oasis M1 – 1,24. Така ж закономірність спостерігалася при аналізі висоти пагонів: при застосуванні ПР вона зростала у 1,3 рази відносно контролю станом на 17.05.2021 р., а при сумісному застосуванні ПР і мікробіологічного препарату зростала в 1,5 рази. Станом на 14.07.2021 р. висота пагонів рослин пшениці достовірно не відрізнялася.

Отримані дані свідчать про ефективність внесення в ґрунт мікробіологічного препарату Oasis M1 у комплексі із ПР гречки й ПР кукурудзи і сої у співвідношенні 1:1 перед посівом озимої пшениці.

### **Мицак О., Капрусь І.**

#### **КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СОМИКА КОРИЧНЕВОГО *AMEIURUS NEBULOSUS* (LESUEUR, 1819) В ОЗЕРАХ ПІСОЧНЕ ТА СВІТЯЗЬ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна,  
e-mail: oleg.mytsak@ukr.net*

**Mytsak O., Kaprus I.** CORRELATION ANALYSIS OF MORPHOMETRICAL INDICATORS OF BROWN CATFISH *AMEIURUS NEBULOSUS* (LESUEUR, 1819) IN PISOCHNE AND SWITIAZ LAKES. Fish in different lakes lose their ability to maintain the proper level of genetic polymorphism of populations. The adaptation of fish to the conditions of existence in different lakes consists in the change of morphological features in accordance with the hydrological regime, competitive and trophic relationships. This is manifested in the formation and accumulation of inter-population differences.

Природнім ареалом сомика коричневого *Ameiurus nebulosus* є Північна Америка. Трапляється він у ріках басейну Атлантичного океану та Мексиканської затоки від Нової Шотландії та Нью-Брансвіку в Канаді, до затоки Мобіл в штаті Алабама (США) (FishBase).

Цей вид був інтродукований до Європи та має тепер негативний екологічний вплив на аборигенні види риб. Згідно з Global Register of Introduced and Invasive Species (GRIIS), сомик коричневий вважається інвазивним видом іхтіофауни на території 28 країн.

У GRIIS інвазивними вважають такі види, що мають вплив (є інвазивними), якщо є докази того, що види негативно впливають на біорізноманіття, і включають види, які є поширеними, швидко поширюються або присутні у великій кількості (Aleksandrov et al. 2020).

Дослідження проводились на двох ділянках на території Шацького району: з озера Пісочного біля Шацького біолого-географічного стаціонару, з озера Світязь – з південно-східного узбережжя затоки Лука у період з вересня по листопад 2021 року. Дослідження проводили згідно з загальноприйнятими в іхтіології та гідроекології методиками (Методика збору і обробки, 1998).

За досліджуваній період за допомогою морфометричних методів на обох ділянках було зібрано та опрацьовано по 15 екземплярів сомика коричневого. Загалом було вивчено 23 морфометричних показники, на основі яких обчислювали коефіцієнт кореляції відносно повної довжини тіла (L). Після цього вираховувалась різниця між коефіцієнтами обох вибірок з озера Пісочне та озера Світязь.

У результаті проведених досліджень встановлено найбільшу різницю між коефіцієнтами кореляції у таких показників: довжина голови (1с) – 0,47; довжина хвостового стебла (р l) – 0,42 довжина основи анального плавця (1A) – 0,32; висота анального плавця (hA) – 0,31; найбільша товщина тіла (iH) – 0,23; відстань між плавцями (V,A) – 0,22; висота спинного плавця (hD) – 0,19; довжина черевного плавця (IV) – 0,14; антедорсальна відстань (aD) – 0,13; найбільша висота тіла (H) – 0,12; висота голови (hc) – 0,10.

Менша різниця спостерігається у таких параметрів: висота до середини ока (hc1) – 0,09; відстань між плавцями (P,V) – 0,07; довжина основи спинного плавця (ID) – 0,05; Антеанальна відстань (aA) – 0,05; Довжина мала, або промислова (l) – 0,04; Діаметр ока (do) – 0,03; Довжина грудного плавця (IP) – 0,02; Найменша висота тіла (h) – 0,02; Постдорсальна відстань (pD) – 0,02; Довжина рила (1r) – 0,01; Ширина чола (io) – 0,01; Антевентральна відстань (aV) – 0,01.

У риб які населяють різні озера втрачається здатність до підтримання належного рівня генетичного поліморфізму популяцій. Адаптація риб до умов існування у різних озерах полягає у зміні морфологічних ознак відповідно до гідрологічного режиму, конкурентних та трофічних зв'язків. Це проявляється в утворенні і накопиченні міжпопуляційних відмінностей.

**Пилипів А., Драч Ю., Мамчур З.**  
**МОХОПОДІБНІ МІСТА ДОЛИНА**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: anitusyalove@gmail.com*

**Pylypiv A., Drach Yu., Mamchur Z.** BRYOPHYTES OF DOLYNA CITY. On the territory of Dolyna city, 11 species of bryophytes from one division (Bryophyta) were identified. By substrate preference, most of the identified species were epigeal. On the rocks or artificial stone four species were found. Among the ecological groups subheliophytes (5 species, 45.5%) and hygromesophytes (27.3%) are dominant and 6 species are indifferent to temperature. Among the life forms of the studied bryophytes, the turf form dominates - 6 species (54.5%).

Долина – місто районного значення, що знаходиться на відстані 58 км від обласного центру (місто Івано-Франківськ). Площа міста складає 27 км<sup>2</sup>, а кількість населення станом на 2016 рік становить 20 755 осіб. Мохоподібні є важливим компонентом урбоекосистем, тому метою нашого дослідження було виявлення насамперед найпоширеніших видів бріофітів. Збір мохоподібних проводили маршрутним методом у липні 2021 року на території міста Долина в таких локалітетах: міський парк Долина (48°58'39.7"N 23°58'56.5"E) та вулиця Івана Франка (48°57'36.2"N 24°00'37.1"E). Збір та визначення проводила за загальноприйнятими методиками. Були обстежені: ґрунт, а також кам'янисті субстрати як природного, так і антропогенного походження. Екологічні групи і життєві форми виділяли за методикою Хілла та Еленберга (Hill, 2007; Ellenberg, 2010). Наукові назви видів подано за Ходжетсом (Hodgetts, 2020).

У результаті польових досліджень було виявлено 11 видів мохоподібних, які належать до восьми родин відділу Bryophyta. Зокрема, це види: *Amblystegium serpens* (Hedw.) Schimp. (знайдено на ґрунті і кам'янистому субстраті), *Barbula unguiculata* (Hedw.) (ґрунт, кам'янисті субстрати), *Bryum argenteum* (Hedw.) (асфальт), *Brachythecium campestre* (Müll.Hal.) Schimp. (ґрунт), *Brachytecium rutabulum* (Hedw.) Schimp. (ґрунт, між куртинами трави), *Didymodon rigidulus* Hedw. (бетон), *Fissidens taxifolius* Hedw. (ґрунт), *Oxyrrhynchium hians* (Hedw.) Loeske (ґрунт), *Physcomitrium pyriforme* (Hedw.) Bruch & Schimp (ґрунт), *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T.J.Kop. (ґрунт), *Ptychostomum imbricatum* (Müll.Hal.) Holyoak & N. Pedersen (ґрунт).

Найбільше видів мохоподібних (63,6 % від загальної кількості видів) знайдено на ґрунті: *Barbula unguiculata*, *Ptychostomum imbricatum*, *Brachythecium campestre*, *B. rutabulum*, *Fissidens taxifolius*, *Physcomitrium pyriforme*, *Plagiomnium undulatum*. На кам'янистих субстратах виявлено *Amblystegium serpens* і *Barbula unguiculata* (Hedw.), а види *Bryum argenteum* (Hedw.) та *Didymodon rigidulus* Hedw. – також на штучних кам'янистих субстратах (асфальт, бетон).

Для мохоподібних важливими чинниками є світло, волога і температура. За відношенням до світла на території дослідження були виявлені такі групи мохоподібних: субгеліофіти (45,5% від загальної кількості видів) та гемісціофіти (27,3%), які переважають, геліофітів виявлено 18,2%, сціофітів – 9%. За температурним показником 45,5% є холодотолерантними та 54,5% – індиферентними. За показником вологості переважають гігромезофіти (27,3%), а ксерофіти, ксеромезофіти і гігрофіти становлять по 18,2%. Найменша група мезофітів (9,1%), та один вид з невизначеною ознакою по відношенню до вологи. Серед життєвих форм досліджених мохоподібних домінує дернина форма – 54,5%, подушка становить 36,4%, плетиво – 9%.

Такі дослідження вперше проводяться для міста Долина. Тому доцільно продовжити детальні обстеження інших субстратів, насамперед, форофітів, а також провести бріоіндицикайну оцінку стану атмосферного повітря м. Долини.

### **Пожоджук В., Цвілинюк О.**

#### **ВПЛИВ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО ПРЕПАРАТУ OAZIS-M1 НА ЗАМУЛЬЧОВАНОМУ ПОЖНИВНИМИ РЕШТКАМИ ҐРУНТІ НА БІОМАСУ РОСЛИН *ZEA MAYS* L.**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
79005, вул. Грушевського, 4, Львів, Україна;  
e-mail: Veronika\_Pozhodzhuk@outlook.com*

**Pozhodzhuk V., Tsvilnyuk O. THE INFLUENCE OF THE MICROBIOLOGICAL PREPARATION OAZIS-M1 ON THE BIOMASS OF AND *ZEA MAYS* L. PLANTS ON SOIL MULCHED WITH HARVEST RESIDUES.** The greatest increase in dry and raw mass was recorded under the action of mulch from the remains of buckwheat and wheat crops and the researched drug. Thus, it can be stated that the studied drug in this concentration increases the biomass of corn and can be recommended for further use.

Вагоме значення для формування високого врожаю кукурудзи є показник продуктивності такий як динаміка приросту сирої та сухої біомаси. Перспективним методом підвищення приросту біомаси є ЕМ-технологія – технологія оздоровлення навколишнього середовища за допомогою ефективних мікроорганізмів.



Ми досліджували вплив препарату Oasis-M1 на збільшення біомаси рослин *Zea mays* L. Для цього у горщики з пісковим ґрунтом восени вносили окремо поживні рештки пшениці і гречки, у половину з них додавали розведений згідно інструкції препарат Oasis-M1. Весною, через шість місяців після внесення поживних решток у досліджувані субстрати, посіяли насіння кукурудзи сорту Успіх. Контролем слугував чистий пісковий ґрунт. Ефективність впливу препарату оцінювали за сирою та сухою масами коренів і пагонів рослин кукурудзи. Визначення маси здійснювали ваговим методом.

Отримані результати засвідчили, що сира і суха маси коренів й пагонів рослин кукурудзи, вирощених на піщовому ґрунті, замульчованому поживними рештками кукурудзи і пшениці, зменшувалися у порівнянні з контролем. За виключенням показника сирової маси коренів рослин, вирощених на піщовому ґрунті з поживними рештками гречки.

Комплексне застосування мульчі із всіх досліджуваних поживних решток з мікробіологічним препаратом Oasis-M1 стимулювало приріст сирової і сухої мас рослин кукурудзи.

Так, за дії мульчі із поживних решток гречки і мікробіологічного препарату сира та суха маси коренів рослин *Z. mays* перевищували контроль на 35% та 30% відповідно. А сира та суха маси пагонів досліджуваних рослин зростала на 47% та 136% відповідно.

Мульча із поживних решток пшениці і досліджуваного препарату спричиняла зростання сирової та сухої мас коренів рослин кукурудзи на 7% та 34%, а пагонів – на 31% і 103% відповідно.

Таким чином можна стверджувати, що поживні рештки і пшениці, і гречки під впливом мікробіологічного препарату Oasis-M1 ефективно підживлюють рослини *Z. mays*, їх доцільно саме в такій якості використовувати.

#### **Полотнянко Л.**

#### **ЗМІНИ МОРФОМЕТРИЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КОРОПА ЛУСКАТОГО *Cyprinus carpio* L. ЗА ДІЇ МІКОТОКСИНУ T2**

*Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка  
вул. Гетьмана Полуботка, 53, 14037 м. Чернігів, Україна  
e-mail: mekhedolga@gmail.com*

**Polotnyanko L.** CHANGES IN MORPHOMETRIC AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF SCALED CARP *Cyprinus carpio* L. UNDER THE ACTION OF MYCOTOXINE T2. The study concerned changes in the morphological parameters of carp under the influence of mycotoxin T2. The coefficients of fattening decrease by 16% and 8%, respectively, which may indicate a loss of nutritional properties of fish. An insignificant shift in the compactness index was also observed. Other indicators show an upward trend, but the differences are unlikely. The cellular content of total protein in the blood of the experimental fish decreased by almost 18% (20.0 g/dm<sup>3</sup> in the control versus 17.0 g/dm<sup>3</sup> in the animals exposed to the mycotoxin T2).

Мікотоксини - продукти метаболізму грибів, що уражають зернові та інші кормові культури (Крюков, 2013). Це низькомолекулярні вторинні метаболіти, що синтезуються мікроскопічними пліснявими грибами та виробляються як після зберігання, так і у процесі вирощування культур (Хофштеттер, Белтран, Траттнер, 2007). Встановлено, що близько 300 метаболітів грибів потенційно токсичні для

людини і тварин. Мікотоксини широко поширені в природі, і 25-30% врожаю зернових уражаються грибами. Останнім часом доведено, що гранично допустимих, безпечних рівнів мікотоксинів немає, навіть найменші їх кількості в кормах мають негативний ефект і здатні поступово накопичуватися в організмі тварин і птиці (Іваницький, 2006).

Результати змін морфометричних іхтіологічних показників риб, що знаходилися за дії мікотоксину Т2 свідчать, що коефіцієнти вгодваності зменшуються на 16% та 8% відповідно, що може говорити про втрату поживних властивостей риб. Також спостерігали несуттєве зменшення індексу компактності. Інші показники проявляють тенденцію до зростання, однак відмінності невірогідні. Кількісний вміст загального білку в крові дослідних риб зменшився майже на 18% (20,0 г/дм<sup>3</sup> в контролі проти 17,0 г/дм<sup>3</sup> у тварин, що перебували за дії мікотоксину Т2).

**Прытула С., Мамчур З., Драч Ю.**

### ОСОБЛИВОСТІ ПОПУЛЯЦІЇ СФАГНІВ ТЕРИТОРІЇ ГІРСЬКОГО МАСИВУ ГОРГАНИ

*Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна,  
e-mail: sergii.prytula08@gmail.com*

**Prytula S., Mamchur Z., Drach Yu.** RESEARCH OF THE SPHAGNUM POPULATION IN THE TERRITORY OF THE MASSIF GORGANY. A study of sphagnum moss populations was conducted on the territory of Gorgan. Populations of species were identified: *Sphagnum quinquefarium*, *S. capillifolium*, *S. flexuosum*, *S. russowii*, *S. squarrosum* and their features were analyzed. Sphagnum population of high mountain biotopes are subject to significant anthropogenic influence due to a high level of recreational activity and massive deforestation.

Сфагнові мохи високогірних біотопів зазнають значного антропогенного впливу в гірських екосистемах (різкі зміни умов зволоження, руйнування природних оселищ, рекреаційне навантаження). Вивчення видового складу та популяційних характеристик цієї групи бріофітів як найменш дослідженої, але перспективної з огляду на їхню індикаторну цінність, є надзвичайно актуальним.

Мохоподібні масиву Горган, що простягається на території Закарпатської (Хустський і Тячівський райони) та Івано-Франківської (Калуський, Івано-Франківський і Надвірнянський райони) областей є малодослідженим об'єктом біоти. Для цієї території раніше нами встановлено 23 види сфагнових мохів. Крім того, встановлено (Прытула та ін., 2022), що *Sphagnum quinquefarium*, *S. capillifolium*, *S. girgensohnii*, *S. russowii*, *S. squarrosum* є найпоширенішими видами роду на території дослідження. Сфагнові мохи поширені на ґрунті перезволожених оселищ, насамперед на болотах і в заболочених лісах, а також на мокрому камінні. Важливим завданням є встановлення видового складу, а також проведення спостережень за станом популяції сфагнів.

Проведені дослідження на трьох ділянках на території Сивулянського підрайону (околиці с. Стара Гута, Івано-Франківський район, Івано-Франківська область) у різних ектопах: №1 – хвойний ліс (туристичний маршрут на полонину Середню, 761 м н. р. м., 48°61'85.7"N 24°18'85.7"E), №2 – болітце (туристичний маршрут на г. Сивуля, 713 м н. р. м. 48°60'78.6"N 24°18'86.5"E), №3 – жереп на осипах

(г. Ігровець, 1744 м н. р. м. 48°35'46.0"N 24°06'04.3"E) та закладено дослідні трансекти для популяційних досліджень.

Ділянка №1. Виявлено синузії двох видів сфагнів: *Sphagnum quinquefarium* і *S. russowii*, щільність популяції *S. quinquefarium* 220 ос/м<sup>2</sup>, домінує *S. quinquefarium*, проективне покриття обох видів сфагнів становить 70%. Проективне покриття інших мохоподібних на ділянці: *Pleurozium schreberi*, *Polytrichum juniperinum*, *Bazzania trilobata*, *Dicranum scoparium* становить 30%. Рівень вигоптування: 10%.

Ділянка №2: Види сфагнів: *Sphagnum squarrosum*, *S. russowii*, *S. flexuosum*, щільність популяції: 24 ос/м<sup>2</sup>, домінує *S. flexuosum*, проективне покриття сфагнів: 70%. З інших мохоподібних виявлено *Rhytidiadelphus triquetrus*, проективне покриття якого менше 10%. Рівень вигоптування: відсутнє.

Ділянка №3: поширений один вид *Sphagnum capillifolium*, щільність популяції: 396 ос/м<sup>2</sup>, проективне покриття: 70%. Проективне покриття мохоподібних *Polytrichum juniperinum*, *Pleurozium schreberi* менше 10%. Рівень вигоптування – 30%.

Порівняння отриманих даних дозволяє встановити певні закономірності: на всіх ділянках проективне покриття сфагнів становить 70%, що зумовлено сприятливими гідро-термічними умовами екоотопів. Визначальним є насамперед зволоження – види *Sphagnum quinquefarium* та *S. capillifolium* егігрофітами, *S. flexuosum* – гігрогідрофіт. Саме тому, вони позицію входять до складу домінантів, у порівнянні з іншими видами сфагнів у досліджених оселищах.

### **Савчак О.<sup>1</sup>, Капрусь І.<sup>1,2</sup>**

#### **ЧАСТОТА ТРАПЛЯННЯ ТА ЕКОЛОГІЧНІ ГРУПИ КОЛЕМБОЛ У ЛІСОВИХ ЕКОСИСТЕМАХ ВІГЕРСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПАРКУ (ПОЛЬЩА)**

<sup>1</sup> Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна

<sup>2</sup> Державний природознавчий музей НАН України,  
вул. Театральна, 18, Львів, Україна

e-mail: savchac22@gmail.com, kaprus63@gmail.com

**Savcak O., Kaprus I. SPECIES NUMBERS AND ECOLOGICAL GROUPINGS OF COLLEMBOLA IN FOREST ECOSYSTEMS OF THE WIGER NATIONAL PARK (POLAND) IN THE FORMATION OF THE ECOLOGICAL STRUCTURE OF THE TAXOCENE COLLEMBOLA.** The value of hazel in the forest ecosystems of Viger National Park in the formation of the ecological structure of the *Collembola taxocene* was investigated. It was established that the highest frequency of occurrence both in soil samples, both with hazel and without it, are eurytopic species of Collembola (share 75.1-100% or a completely permanent species). Also, in addition to eurytopic species, many polytopic forest species, which are ecologically related to different types of forests, were found in the studied collembolan fauna.

В результаті проведених досліджень в лісових екосистемах формації *Tilio-Carpinetum* Вігерського НП виявлено 51 вид колембол. Встановлено, що видами з найбільшою частотою трапляння в усіх досліджених варіантах лісів є такі евритопні види колембол, як *Parisotoma notabilis*, *Pogonognathellus flavescens*, *Lepidocyrtus lignorum*, *Pseudosinella horaki* (75,1-100% відібраних ґрунтових проб або абсолютно постійні види). Ці види населяють різні типи лісових біотопів досліджуваного регіону.

Друга група — види з дещо меншою частотою трапляння в пробах ґрунту або на дослідних ділянках (від 50,1 до 75%): *Isotomiella minor*, *Orchesella bifasciata*, *Orchesella flavescens*, *Neanura muscorum*, *Lepidocyrtus lanugonosus*, *Protaphorura armata* та інші. Деякі види колембол можуть мати високу частоту на дослідних ділянках, але низьку – у зразках ґрунту в окремих біотопах (*Neanura muscorum*, *Lipothrix lubboki*, *Oligaphorura absoloni*, *Folsomia quadrioculata*, *Sphaeridia pumilis*, *Protaphorura subarmata*). Встановлено, що більшість видів колембол (за класифікацією Тішлера) належать до вторинних або випадкових груп, тобто трапляються менше ніж у 50% проб.

У дослідженій фауні колембол, окрім євритопних видів, виявлено багато політопних лісових видів, які екологічно пов'язані з різними типами лісів, та пристосовані до життя не лише в ґрунті та лісовій підстилці, але й під корою дерев, на грибах, мохах та лишайниках. З літературних даних відомо, що найбагатші та найрізноманітніші угруповання сапроксильних колембол у Вігерському національному парку виявлено в оселищі граба субконтинентального (*Tilio Carpinetum*). На підставі аналізу зібраного матеріалу ми дійшли висновку, що вісім видів колембол можна віднести до сапроксильних. Три з них, тобто *Proisotoma minima*, *Vertagopus cinereus* і *Pratanurida boernerii*, є сапроксиліобіонтами.

Наступна екологічна група видів — *Pseudachorutes parvulus*, *Neanura muscorum*, *Neanura minuta*, *Oligaphorura absoloni* та *Entomobrya corticalis* є сапроксиліофілами, або видами, які віддають перевагу мертвій деревині, але також можуть жити в інших лісових середовищах проживання. Серед них можна виділити мешканців кори дерев (*Pratanurida boernerii*, *Vertagopus cinereus*, *Entomobrya corticalis*), гниючої деревини (*Pseudisotoma sensibilis*) і тих які зустрічаються в обох мікробіотопах (*Pseudachorutes parvulus*, *Neanura muscorum*, *Neanura minuta*, *Oligaphisotoma minima*).

З мертвою або живою деревиною пов'язані також ксерофільні бріофіли: *Xenylla boernerii*, *Xenylla brevicauda*, *Pseudachorutes dubius*, *Orchesella bifasciata*, *Entomobrya marginata*, *Entomobrya muscorum* і *E. nivalis*, які живуть у заглибленнях кори дерев або епіфітних мохах. Однак, їх важко вважати повністю сапроксильними видами, оскільки вони населяють живі та мертві дерева. Решта 35 видів є типовими мешканцями підстилки або ґрунту. Причому, деякі з них знаходять хороші умови для життя в мохах, лишайниках і сухостійній деревині.

### **Савінкова В., Мамчур З.**

ВИСОКОІНВАЗІЙНІ ВИДИ РОСЛИН В УРОЧИЩІ «ЧЕРВОНЕ»  
(НПП «ДНІСТРОВСЬКИЙ КАНЬЙОН»)

Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів

вул. Грушевського, 4, Львів 79000, Україна

e-mail: vikasavinkova01@gmail.com

**Savinkova V., Mamchur Z.** HIGHLY INVASIVE PLANT SPECIES OF THE RESERVE TRACT CHERVONE (NNP THE DNIESTER CANYON). The spread of 6 highly invasive plant species was found on the territory of the reserve tract Chervone. Their origin and degree of naturalization are also established.

Урочище Червоне (N 48.4818°, E 25.3534°) – входить до складу НП «Дністровський каньйон». Унікальні природні особливості території, а саме червонясті стрімкі схили каньйону річки Джурин з унікальною рослинністю є

привабливим місцем для туристів. Останніми роками спостерігається експансія чужорідних видів рослин, тому метою нашого дослідження було встановити найпоширеніші види високоінвазійних рослин на території урочища.

*Acer negundo* L. (Sapindaceae). Північноамериканський кенофіт, за ступенем натуралізації агріофіт, який подолав F-бар'єр. На території урочища поширений у долині Джурина (N 48.8085510°, E 25.5987510°), уздовж туристсько-екологічного маршруту Устечко-Червоне-Нирків (N 48.8101650°, E 25.5976130°). *Ambrosia artemisiifolia* L. (Asteraceae). Північноамериканський кенофіт. За ступенем натуралізації це епекофіт, що долає E-бар'єр. Вид поширений уздовж доріг (N 48.8034537°, E 25.5916147°), у межах урочища трапляється біля водотоків (N 48.805168°, E 25.583177°). *Erigeron annuus* (L.) Pers (Asteraceae). Північноамериканський кенофіт. Агріо-епекофіт, який вкорінюється у природні ценози (F-бар'єр). На території урочища вид поширюється у природних (N 48.810165°, E 25.597613°) та антропогенно змінених (N 48.809435°, E 25.600137°) біотопах. *Galinsoga parviflora* Cav. (Asteraceae) – південноамериканський кенофіт. За ступенем натуралізації – епекофіт, що масово поширюється в антропогенно трансформованих та агроценозах (N 48.8079178°, E 25.5917128°). Часто трапляється на узбіччях доріг (N 48.812139°, E 25.596174°, N 48.8042204°, E 25.5894712°) та біля сміттєзвалища (N 48.8068086°, E 25.600263°). *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch. (Vitaceae) – північноамериканський кенофіт. За ступенем натуралізації – агріо-епекофіт. Тяжіє до антропогенних ценозів (F-бар'єр). Трапляється на околицях суміжних сіл (N 48.807366°, E 25.5921918°, N 48.8060521°, E 25.5893201°). *Robinia pseudoacacia* L. (Fabaceae) – північноамериканський кенофіт. Агріо-епекофіт, подолав F-бар'єр. Масово поширений в антропогенно змінених ценозах (N 48.8085605°, E 25.6022883°), утворює густі зарості вздовж доріг (N 48.8066095°, E 25.5921011°) та біля людських поселень (N 48.8067091°, E 25.5986306°).

Вплив високоінвазійних видів рослин становить загрозу унікальним природним ценозам урочища Червоне, тому дослідження поширення та особливостей інвазії чужорідних видів має пріоритетне значення для охорони об'єктів ПЗФ України.

**Химин О., Капрусь І.**

**ВИДОВЕ РОЗМАЇТТЯ ҐРУНТОВИХ COLLEMBOLA НА ДІЛЯНКАХ  
ЯВОРИВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКУ ЗАХОПЛЕНИХ  
ІНВАЗІЙНИМ ДУБОМ ЧЕРВОНИМ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: olha.khymyn@lnu.edu.ua*

**Khymyn O., Kaprus' I.** SPECIES DIVERSITY OF SOIL COLLEMBOLA IN THE AREAS OF THE YAVORIVSKY NATIONAL NATURE PARK ATTACKED BY THE INVASIVE RED OAK. A study of the species diversity of Collembola in the territory of the Yavoriv National Park was carried out in plots invaded by the invasive red oak. As a result of the conducted research, an increase in species diversity of Collembola of invasive red oak compared to autochthonous tree stands was revealed. The instability of the changed ecosystem, which can lead to the degradation of native biocenoses, has been established.

На території Яворівського національного природного парку впродовж 2020 – 2021 років проводились дослідження таксоцену колембол на ділянках захоплених високоінвазійним дубом червоним (*Quercus rubra*). Як контроль було взято корінний

для даної території грабово-дубовий фітоценоз (асоціація *Querceto-Carpinetum saniculosum* (Пясецький, 1942)).

За весь період досліджень, стандартними ґрунтово-зоологічними методами, було відібрано 80 ґрунтових проб (по 20 в осінній, весняний, літній та зимовий сезони). В результаті проведеної роботи, в інвазійному дубняку виявлено 47 видів колембол, які належать до 11 родин та представлені 2874 особинами.

Найчисельнішою у дослідженому фітоценозі є родина Isotomidae, вона становить 73% від загальної чисельності таксоцену колембол та включає 9 видів. Структура домінування представлена трьома типово лісовими і еврибіонтними видами: еудомінантом є *Folsomia manolachei* і становить 40% від загальної кількості особин, домінант - *Isotomiella minor* - 24% та 5% - субдомінант - *Pseudosinella horaki*. Решта 45 видів – рецеденти та субрецеденти.

Аналіз дослідженого таксоцену колембол методом Q-статистики (Magurran, 2004), показав значно вищий результат ценотичного розмаїття в інвазійному дубняку (індекс Q = 11,8) ніж у корінному грабовому дубняку (індекс Q = 9,8). Отримані дані підтверджено також індексом Менхініка та Маргалєфа ( IMe=1,2; IMa=6,6 та IMe=0,9; IMa=5,7 відповідно).

В дослідженому інвазійному фітоценозі за загальною кількістю видів та відносною чисельністю у спектрі життєвих форм Collembola переважають підстилково-ґрунтові (762 особини), верхньогрунтові (476 ос.), нижньопідстилкові (242 ос.) та верхньопідстилкові біоморфи. Натомість, досить мала частка представників глибокоґрунтової та кортицикольної життєвих форм колембол.

У складі цього таксоцену Collembola виявлено представників 6 комплексів видів за польовим гігропреферендумом (зокрема, еврибіонтів, гігрофілів, гігро-мезофілів, мезофілів, ксеро-мезофілів та ксерофілів). Крім того, представлено 4 біотопних груп видів (лісові, лісо-лучні, лучно-степові і евритопні). Найбільша частка еврибіонтів (54,7% від загальної чисельності таксоцену). Крім того, виявлено велику частку гігро-мезофільних (27,0%), ксеро-мезофільних і мезофільних видів, які сумарно складають 10,8% від загальної чисельності всього таксоцену. Серед біотопних груп видів за показником видового багатства переважають лісові (42,5% усіх видів колембол), евритопні (27,6%) та лісо-лучні форми (14,8%), але за відносною чисельністю перевага на користь евритопних видів Collembola.

За критерієм спеціалізованості таксоцену колембол, досліджений таксоцен можна віднести до спеціалізованого типу, адже група лісових і лісо-лучних видів становлять у ньому сумарно 57,3%. Відповідно до літературних даних (Кузнецова, 2005), збільшення біорозмаїття у вторинних, змінених екосистемах, не є ознакою їхньої стабільності та унікальності, а пов'язано зі збільшенням гетерогенності середовища, характерної для порушених екосистем, що може призводити за певний час до деградації корінних біоценозів.

**Shelinhovskiy D., Soborova O., Kudelina O.**

ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATE OF THE SOUTHERN BUG RIVER

*Odessa State Environment University,  
15 Lvivska str., Odessa, 65016, Ukraine  
e-mail: shelingovskijdima@gmail.com*

In modern conditions the land surface waters are subjected to a rather significant anthropogenic influence, as a result of which their natural state changes significantly and the possibility of using the individual water bodies for the economic and household needs is

limited. Since the drinking water supply in Ukraine is carried out mainly at the expense of the surface water, the objective information regarding the water bodies state, established on the basis of the hygienic and ecological criteria, becomes very important and relevant.

The Southern Bug is one of the rather large rivers of Ukraine. Its catchment area is completely located within the borders of our country. High regulation, a developed agricultural sector, a number of large cities, energy facilities and industry cause a significant anthropogenic load on this water body, which is primarily expressed in the enrichment of the water with nutrients, in particular nitrogen and phosphorus compounds. At the same time, there are little disturbed areas in the river basin, where the unique flora and fauna of Podillia, granite-steppe Pobuzhzhia, and the Black Sea plains are still preserved.

The basin of the Southern Bug River crosses the forest-steppe and steppe zone of Ukraine and is located in two geomorphological regions - the upper and middle parts are located in the Volyn-Podilskyi and Dnieper highlands, and the lower one is in the Black Sea lowland. The river cuts through the Ukrainian Crystal Shield. In the basin of the river, two hydrological regions are conditionally distinguished - Podilskyi and Prychornomorskyi. In general, it can be assumed that these two hydrological subregions belong to different ecoregions according to the WFD: the Pontic Province and the Eastern Plain.

In the quaternary sediments of the forest-steppe zone, the waters of aeolian-deluvial, less often, fluvioglacial and alluvial formations are the most widespread territorially. The ammonium ion concentrations in such waters on average do not exceed 0.2 - 0.4 mg/dm<sup>3</sup>. The ion background values in the waters of the entire zone range from analytical zero to 2.8 mg/dm<sup>3</sup>. The nitrite concentrations in the waters of the entire zone are insignificant and do not exceed 0.01 mg/dm<sup>3</sup>. The background nitrate content in the water varies from analytical zero to hundreds of mg/dm<sup>3</sup>. In the steppe zone, the waters of aeolian-deluvial sediments are most common. The ammonium ion average content in such waters is usually 0.2 - 0.3 mg/dm<sup>3</sup>. The background values of the ammonium ion concentration range from analytical zero to 4 mg/dm<sup>3</sup>.

Water quality in the South Bug River basin directly depends on the impact of the economic activity on the catchment. The main factors that affect the quantitative and qualitative indicators of the Southern Bug basin surface waters state are water withdrawals, various quality wastewater discharges and irreversible water losses.

As a result of the conducted analysis, it can be stated that the ecological state of the Southern Bug River does not meet the standards for the certain indicators and is deteriorating year after year. All this reduces the possibility of using the water from the Pivdenny Bug River for various needs or requires large costs for its preparation for further using.

Implementing the technological and organizational measures to improve the sanitary and ecological conditions of the river and its catchment basin is necessary to improve the ecological state of the river.

**Jarosiewicz A.**

MUNICIPAL SOLID WASTE IN POLAND

*Institute of Biology and Earth Science, Pomeranian University in Słupsk,*

*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*e-mail: anna.jarosiewicz@apsl.edu.pl*

About 2.3 billion tons of solid waste was made in 2019 within the European Union. Municipal solid waste, defined as the waste generated by households and other sources e.g. shops, offices, schools, or municipal green areas, account for about 10% of the total waste

generated in the EU-27. Although municipal solid waste (MSW) has a relatively low share of the total waste flow, is the most publicly visible sector, and each person within the EU-27 generates about half a ton of MSW ([www.eurostat.ec.europa.eu](http://www.eurostat.ec.europa.eu)). The volume and composition of municipal waste vary from country to country, depending on the social and economic conditions and local waste management system efficiency. Current EU waste policy is generally based on a concept known as the waste hierarchy (Cucchiella et al., 2014; Williams, 2015; Van Ewijk et al., 2016), but European countries use a variety of policy instruments for waste generation prevention or reduction, or for diverting municipal waste from landfills and moving towards more recycling (EEA, 2007; Bassi et al., 2017).

The first Polish law concerning waste management came into force in 1998. Another important act about cleanliness and order in municipalities was passed in September 1996. On 1 October 2001, a new Act on Waste from April 2001 came into force introducing the waste hierarchy, waste definitions, the proximity principle, and the principle of extended producer responsibility. In 2002, the first National Waste Management Plan (NWMP) was approved for the years 2001 – 2006 (Monitor Polski, 2002).

Recently, the waste management system in Poland has undergone a significant transformation. The New Act of Waste from December 2012 was adopted due to the need for European law implementation. However, the fundamental changes were connected with the force of the Act of 1 July 2011 amending the Act on Maintaining Cleanliness and Order in Municipalities and certain other acts. The Act changed the model of municipal waste management i.e. the municipality's tasks and the property owners' obligations for maintaining cleanliness and tidiness, organization of municipal waste collection and treatment. The responsibility to manage municipal waste was given to the local authorities. The most important change was that all inhabitants were included in the system, and municipal waste management systems are required to be self-financing.

In 2016 was published the fourth National Waste Management Plan 2022 (Monitor Polski, 2016). According to the NWMP 2022 Poland's goal is to maintain a constant quantity of generated waste; reduce the volume of waste generated relative to gross domestic product, and to reduce of municipal solid waste stream disposed of by landfilling. Poland produces yearly between 10 – 12 million tons of municipal solid waste. In 2019 it was 12.7 million tons of MSW and about 82% of them were generated by households. The country is the sixth biggest producer of municipal waste in the EU [Eurostat, 2018]. However, with a population of 38.4 million people, Poland generates about 180 kg/capita/year less MSW per capita than the EU average. It means that each individual in Poland is said to generate about 300 kg/capita/year (0.83 kg/capita/day).

The amount of municipal waste in Poland per capita in the years 1995 – 2012 was stable and throughout the analyzed period lower than the EU average by about 200 kg. The local system of municipal waste management in Poland has completely changed since July 2013. Before the transformation, about 15% of the MSW generated was reintroduced into the environment without any control over it (wild dumping). Additionally, only 78% of the population was covered by an organized MSW collection (Monitor Polski, 2010). The inclusion of all inhabitants in the waste collection system sealed the system. A visible example is a gradual increase in the amount of MSW per capita. In Poland, the amount of municipal waste generated per capita varies between voivodships. The lowest values are obtained in voivodships of eastern Poland - 200-230 kg (lubelskie, podkarpackie, podlaskie, świętokrzyskie). On the other hand, the greatest amount of municipal waste, approximately 350 kg, falls on the inhabitants of the following voivodeships: dolnośląskie, lubuskie, pomorskie, śląskie, and zachodniopomorskie.



Since the introduction of the waste reform in 2013, the amount of municipal waste collected selectively in Poland is gradually increasing. Until 2013, waste collected selectively accounted for about 10% of generated municipal waste. In 2017, it was already above 27%. It is still an unsatisfactory value, however, the trend of the following changes is correct. The structure of selectively collected waste also changed in 2003-2017. During this period, the percentage of glass and paper in segregated waste decreased. On the other hand, the share of biodegradable waste has increased significantly. The share of other fractions, such as plastics, bulky waste as well as electric and electronic waste, is relatively stable. In 2017 the share of individual types of waste was as follows: biodegradable 30%; glass 15%; plastic 13%; bulky waste 12%; paper 8%; electric and electronic waste 2%; metals 1%; others 19%.

The waste management system in Poland has been thoroughly reformed. The changes can be preserved at every step, starting from the implementation of educational programs, through an extensive system of selective waste collection, financial outlays for new investments, including the organization of selective waste collection points, modern sorting, and composting plants, or new municipal waste incineration plants. Nevertheless, the system needs further improvement and sealing. Landfilling is still a significant form of municipal waste management in Poland, but the amount of landfill waste significantly decreased over the last decade, and the percentage of MSW going to landfills changed from about 90% to about 45%. In 2016 it was about 140 kg/capita compared with 226 kg/capita in 2005. Additionally, there are some positive figures about recycling, with the total recycling of municipal solid waste increasing from about 6% in 2005 to 34.8 % in 2016. The successive launching of a new thermal municipal waste treatment plant caused the amount of MSW thermally treated at incinerations to increase from below 1% in 2010 to about 20% in 2016.

## ЗООЛОГІЯ ZOOLOGY

**Дорошенко О., Назарук К.**

ВИДОВИЙ СКЛАД МІРМЕКОФАУНИ ПАРКІВ М. ЛЬВОВА

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: av051501@gmail.com*

**Doroshenko O., Nazaruk K.** SPECIES COMPOSITION OF THE ANT FAUNA IN THE PARKS OF LVIV CITY. This study was aimed at investigating the fauna of ants in urbanized park areas of Lviv and the ethological aspects of typical species of these areas in connection with winter diapause. There were recorded 19 species that belong to 5 genera, which in turn belong to the two subfamilies: *Formicinae* and *Myrmecinae*. It was found that the typical species are *Myrmica rubra* and *Lasius niger*, while the genus *Formica* is represented by various species. *Formica* tended to enter diapause the earliest and exit from it the latest among investigated. In contrast, *L. niger* went the last and was the first to exit diapause. *M. rubra* occupies a middle position due to the criterion.

Дослідження видового складу мурах є невід’ємною складовою цілісної оцінки фауни певних територій, адже під час своєї життєдіяльності сім’я мурах здійснює колообіг біогенних й мінеральних речовин, аерацію ґрунту, нормалізацію його рН. Все це має прямий вплив на рослинність та дрібних тварин. Їхня здатність до адаптації дозволяє їм заселяти міста, парки та навіть людські помешкання, що може бути використане для оцінки антропогенного навантаження на вибраних територіях.

Метою даної роботи була оцінка видового складу мурах (Formicidae) парків Львова та дослідження сезонних ритмів цих комах на прикладі найпоширеніших видів вибраних територій. Для досягнення цих цілей було здійснено відбір матеріалу на трьох рівнях за площею паркових територіях міста Львова (Стрийський парк, Винниківський лісопарк, регіональний ландшафтний парк Знесіння), проведено визначення й аналіз зібраного матеріалу та досліджено сезонні зміни поведінки мурах. Відбір робочих особин здійснювали у період з кінця липня по вересень 2021 року. Спостереження за станом мурашників та поведінкою робочих особин здійснювали у два періоди, а саме з вересня по жовтень 2021 року та з березня по квітень 2022 року. Визначення здійснювали за О. Г. Радченком (Радченко, 2016).

Усього було досліджено 40 зразків, що включали 1-3 робочих мурах кожний. Таким чином, нами було ідентифіковано 19 видів, що належать до 5 родів, які в свою чергу належать до двох підродин: Formicinae та Myrmecinae. Представники Dolichoderinae не були виявлені через прихований спосіб життя, хоча могли би бути у малій кількості. Отримані дані підтверджують загальну тенденцію до більшого біорізноманіття на територіях з меншим антропогенним навантаженням, а саме те що, переважна більшість визначених видів трапляється на території парку Знесіння – 14 видів, в той час як у Стрийському та Винниківському – 9 та 7 видів відповідно. На вказаних територіях з найбільшою частотою траплялись 3 роди: *Myrmica* з типовим представником *M. rubra*, *Lasius* з переважною більшістю представників виду *L. niger* та *Formica* з доволі гетерогенним видовим складом.

Крім типових видів були виявлені цікаві знахідки. Однією з таких знахідок є вид *Myrmecina graminicola* (Latreille, 1802). Варто зазначити, що нами були

локалізовані та визначені представники видів *Formica polyctena* та *F. rufa*, які є активними ентомофагами та грають велику роль у захисті від спалахів чисельності шкідників.

Дослідження сезонних ритмів мурах проводили на вищезгаданих типових видах. З роду *Formica* були вибрані *F. polyctena* та *F. rufibarbis* як найбільш поширені. Було визначено, що останні входять у стан зимової діпаузи набагато швидше, а саме на межі вересня та жовтня. Вони ж виходять з цього стану найпізніше, наприкінці квітня. З іншої сторони *Lasius niger* залишався активним найдовше восени (до кінця жовтня) та виходив на поверхню одним з найперших та в кінці березня є доволі активним. *Myrmica rubra* займала проміжне становище за нашими результатами.

### Лесів К.

#### АНАЛІЗ ПОШКОДЖЕННЯ ЛИСТЯ ВІЛЬХИ ЧОРНОЇ (*ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN) ЛИСТОЇДАМИ: *LINAEIDEA AENEAE* L. ТА *AGELASTICA ALNI* L. НА ТЕРИТОРІЇ МАЛОГО ПОЛІССЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: [klesiv641@gmail.com](mailto:klesiv641@gmail.com)

**Lesiv K.** ANALYSIS OF LEAF DAMAGE OF BLACK ALDER (*ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN) BY CHRYSOMELIDA *LINAEIDEA AENEAE* L. AND *AGELASTICA ALNI* L. IN THE TERRITORY OF MALOHO POLISSIA. During the research, the density of the *Linaeidea aenea* L. (6.35) and *Agelastica alni* L. (13.6) on the territory of Lesser Polissia was established. Also determined the harmfulness of each species by the share of the damaged leaf surface area. For the *Linaeidea aenea* L. this indicator is 0.18 cm<sup>2</sup> (0.43%), and *Agelastica alni* L. – 0.35 cm<sup>2</sup> (0.87%).

Фауна листоїдів в Україні досліджена добре, але у регіональному плані рівень дослідженості дуже відрізняється. Окремі території, зокрема Мале Полісся та Опілля дослідженні мало, є публікації, які частково розкривають аспекти видового складу цієї родини на даній території та відомості про їхні зв'язки з кормовими породами.

Вільха чорна (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn) на території Малого Полісся належить до основних деревоутворюючих порід. Вона займає 367,0 тис. га або 36,7% від всієї площі м'яколистяних лісів і має запас 59,9 млн м<sup>3</sup> або 37,6% від всього запасу м'яколистяних лісів Українського Полісся (Білоус, Котляревська, 2018).

Дослідження проводили протягом весняно-літнього періоду 2022 року. Для відлову комах використовували загальноприйнятні ентомологічні методи: ручний збір та струшування на полотно. Для визначення площі листкової поверхні використовували метод відбитків.

Найнебезпечнішими серед комах, які пошкоджують вільху, є вільховий листоїд (*Agelastica alni* L.) і лінеїда вільхова (*Linaeidea aenea* L.). Обидва види чисельні на території Малого Полісся. Щільність особин на території розраховували за формулою:  $V=k/n$ , де  $k$  – сума особин одного виду у пробах,  $n$  – кількість проб (Дунаев, 1997). Щільність вільхового листоїда становить 6,35, а лінеїди вільхової – 13,6.

Шкідливість листогризучих комах визначається не лише їхньою чисельністю, а й рядом інших екологічних факторів, зокрема формою, площею та інтенсивністю пошкодження, які вони спричиняють. Шкідливість кожного виду визначали за часткою пошкодженої площі листкової поверхні. З метою оцінювання даного показника відбирали по 25 схожих за розмірами листків вільхи чорної. Переважно

обирали листки з нижніх гілок та реєстрували площу кожного листка. Середня площа листкової поверхні становила 40,71 см<sup>2</sup>.

У подальшому усі листки були поміщені в окремі контейнери, де на один листок припадала одна комаха, і визначали площу пошкодження листкової поверхні, яку спричиняла одна особина за добу. Середня площа пошкодження листка лінійною вільховою (*Linnaea aenea* L.) становила 0,18 см<sup>2</sup> (0,43%), а вільховим листоїдом (*Agelastica alni* L.) – 0,35 см<sup>2</sup> (0,87%). Одна особина спричиняє незначне пошкодження, але збільшення чисельності чи масові спалахи окремих видів можуть мати негативні наслідки для деревних насаджень, тому такі види потребують постійного контролю та моніторингу.

Наслідки спалахів масового розмноження комах-листогризів значною мірою залежать і від початкового стану дерев, якщо дерево було раніше сильно пошкоджено, то маса листя на ньому значно менша, ніж на здоровому дереві, а тому для повного об'їдання листя достатньо невеликої кількості комах (Мешкова, 2015).

### **Марковська О.**

#### РЕЗУЛЬТАТИ МОНІТОРИНГУ ДРІБНИХ ССАВЦІВ В ОКОЛИЦЯХ С. ВЛАСІВКА

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,  
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна  
e-mail: ksenia.markovskaia@gmail.com*

**Markovska O.** RESULTS OF MONITORING OF SMALL MAMMALS IN THE SURROUNDINGS OF VLASIVKA VILLAGE. 1,650 traps and 16 lines were worked out in different habitats. 119 individuals belonging to 3 families and 12 species were obtained. The research area covers the valley of the Berestova River, pine forest, dry maple-linden oak forest, the outskirts of artificial reservoirs, meadows and agrocenoses. *Apodemus agrarius*, *Sylvaemus uralensis*, *Sylvaemus sylvaticus* and *Sorex araneus* dominated floodplain habitats, *Sylvaemus tauricus* and *Sylvaemus sylvaticus* in oak forest and forest edges, and *Sylvaemus sylvaticus* in pine forest.

Дослідження проводили в околицях с. Власівка, Красноградського р-ну, Харківської області. Територія досліджень охоплює долину р. Берестова, соснові насадження, суху кленово-липову діброву, околиці штучних водоймищ, луки та агроценози.

Метою дослідження є оцінка видового різноманіття мікромамалій околиць с. Власівка і моніторинг їх чисельності у різних оселищах.

Облік чисельності гризунів проводили методом пастко-ліній (Нумеров, 2010). Для вилову гризунів використовували пастки Геро. Пастки ставили на відстані 5 м одна від одної в лінію. У кожному оселищі в один облік виставляли 25, 50 або 100 пасток. Облік пастками проводили протягом ночі. Дослідження тривали протягом п'яти років (2017-2021 рр.).

Протягом періоду лову відпрацювали 1650 пасток на 16 лініях в різних оселищах.

Відловлено 119 особин, які належали до 3 родин, 12 видів. Родина Мишачі (*Muridae* Illiger, 1811): житник пасистий (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771), мишак уральський (*Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811), мишак європейський (*Sylvaemus sylvaticus* Linnaeus, 1758), мишак жовтогрудий (*Sylvaemus tauricus* Pallas, 1811), миша хатня (*Mus musculus* Linnaeus, 1758), мишка лучна (*Micromys minutus* Pallas, 1771).

Родина Норицеві (Arvicolidae Gray, 1821): полівка лучна (*Microtus levis* Miller, 1908), нориця руда (*Myodes glareolus* Schreber, 1780). Родина Мідицеві (Soricidae Fisher, 1814): білозубка мала (*Crocidura suaveolens* Pallas, 1811), мідиця звичайна (*Sorex araneus* Linnaeus, 1758), мідиця мала (*Sorex minutus* Linnaeus, 1766), рясоніжка велика (*Neomys fodiens* Pennant, 1771).

Структура домінування видів в оселищах доволі не стійка і змінюється кожного року. В екотонах з прибережно-водною рослинністю та на заплавах луках домінували *Apodemus agrarius*, *Sylvaemus uralensis*, *Sylvaemus sylvaticus* та *Sorex araneus*, в сухій кленово-липовій діброві та на узліссі – *Sylvaemus tauricus* та *Sylvaemus sylvaticus*, в соснових насадженнях – *Sylvaemus sylvaticus*. Варто зазначити, що *Sylvaemus sylvaticus* домінує в заплавах біотопах лише при низькій чисельності *Apodemus agrarius*.

За категоріями присутності (Загороднюк, 2002), до звичайних видів належать *Apodemus agrarius*, *Sylvaemus uralensis*, *Sylvaemus sylvaticus* та *Sorex araneus*, до нечисельних – *Sylvaemus tauricus*, *Microtus levis*, *Sorex minutus*, до рідкісних – *Crocidura suaveolens*, до випадкових – *Mus musculus*, *Micromys minutus*, *Myodes glareolus* та *Neomys fodiens*.

За формулою  $N = n \times 100/D$ , де  $N$  – відносна чисельність,  $n$  – кількість відловлених особин, а  $D$  – кількість виставлених пасток, розраховали відносну чисельність мишоподібних гризунів (Нумеров и др., 2010). Таким чином, влітку 2017 р. відносна чисельність становила 15,7%, навесні 2018 р. – 0,3%, навесні 2019 р. – 11%, влітку 2019 р. – 4,6%, восени 2020 р. – 20,5%, навесні 2021 р. – 0,8%.

## МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

**Бабійчук А., Зубова О., Зубов П.**

ЕФЕКТИВНІСТЬ ТРОЛОКС-ВМІСНОГО КРІОЗАХИСНОГО РОЗЧИНУ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,*

*вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна*

*e-mail: pmzubov@gmail.com*

**Babijchuk A., Zubova O., Zubov P.** EFFICIENCY OF TROLOX-CONTAINING CRYOPROTECTIVE SOLUTION DURING CRYOPRESERVATION OF HUMAN CORD BLOOD NUCLEATED CELLS. The efficiency of cryoprotective solutions containing 7.5% DMSO and the antioxidant trolox was assessed during cryopreservation of human cord blood nucleated cells. It has been shown that trolox at a concentration of 50-70  $\mu$ M exhibits the highest antioxidant activity, ensuring the cell safety up to 86% and viability up to 75%. These data correlate with the ones on lowest content of ROS in these samples.

Застосування гемопоетичних прогеніторних клітин (ГПК) міцно увійшло в практичну медицину розвинених країн світу як ефективний спосіб лікування цілого ряду патологій, включаючи злоякісні гематологічні захворювання, хвороби кісткового мозку, гемоглобінопатії, вроджені порушення метаболізму та інші (Roura S., 2015). Одним із джерел ГПК є кордова кров (КК) людини. Завдяки її унікальним властивостям, відносній простоті та безпеці заготівлі, КК є затребуваним джерелом ГПК. Розрив у часі між моментом заготівлі КК та введенням її в організм реципієнта визначає необхідність застосування технологій кріоконсервування, які дозволяють зберігати матеріал у біологічно повноцінному стані. Все це вимагає створення мережі кріобанків та розробку спеціальних протоколів низькотемпературного консервування, що забезпечують високі показники збереженості та життєздатності клітин після розморожування. Відомо, що в процесі кріоконсервування через різні фізико-хімічні фактори відбувається збільшення кількості активних форм кисню в клітинах, викликаючи порушення енергетичного стану, пошкодження структурних елементів через перекисне окислення ліпідів, а також пошкодження ДНК, призводячи до апоптозу або некрозу клітин. Виходячи з цього, додавання до кріозахисного середовища речовин, які мають виражені антиоксидантні та цитопротекторні властивості дасть змогу, на нашу думку, уникнути або сповільнити розвиток оксидативного стресу і, таким чином, покращити результати кріоконсервування та підвищити клінічну ефективність препаратів ГПК у складі ядровмісних клітин (ЯВК) кордової крові (Davargaon R., 2019).

Проведені нами дослідження довели ефективність та перспективність використання тролоксу (водорозчинного аналогу вітаміну Е) з 7,5% ДМСО при кріоконсервуванні ЯВК КК людини. Широкий концентраційний скринінг дав змогу встановити, що тролоксу у концентрації 50-70  $\mu$ М притаманна найвища антирадикальна активність, яка забезпечує збереження клітин до 86% та життєздатність до 75% після розморожування (за результатами проточної цитофлуориметрії). Вміст активних форм кисню (DCF-позитивні клітини) у досліджуваних зразках був на 30% нижчим, порівнюючи з контролем (що не містить тролокс). Збереження та життєздатність ГПК за таких концентрацій тролоксу

становила до 92% і 78%, відповідно, що вказує на їх більш високу кріостійкість, порівнюючи з ЯВК.

Таким чином, отримані результати вказують на ефективність застосування антиоксиданту тролоксу та перспективність розробки тролокс-вмісних кріопротекторних сумішей для заморожування та довгострокового зберігання ЯВК, у тому числі і ГПК, кордової крові.

**Волошин І.<sup>1,2</sup>, Фаюра Л.<sup>2</sup>, Бродяк І.<sup>1</sup>**

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ФЕНОТИПУ ШТАМІВ-ПРОДУЦЕНТІВ РОЗЕОФЛАВІНУ  
ДРІЖДЖІВ *PICHLIA PASTORIS* ТА *CANDIDA FAMATA*

<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

e-mail: iryna.voloshyn.blb@lnu.edu.ua

**Voloshyn I.<sup>1,2</sup>, Faiura L.<sup>2</sup>, Brodyak I.<sup>1</sup>** SOME CHARACTERISTICS OF THE PHENOTYPE OF *PICHLIA PASTORIS* AND *CANDIDA FAMATA* ROSEOFILAVIN-PRODUCING YEAST STRAINS. The ability of yeast *C. famata* FMN1rosA rosB and *P. pastoris* FMN1rosArosB transformants to accumulate roseoflavin (RoF) in the culture medium was established. Growth kinetics was studied and cultivation conditions were carried out under which the level of RoF synthesis is increased.

Розеофлавін (РоФ) є антибіотиком широкого спектру дії, що продукується грам позитивними бактеріями *Streptomyces davawensis* і *Streptomyces cinnabarinus*. Цей антибіотик має сильний бактеріостатичний ефект щодо грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* та *Micrococcus luteus*. Також РоФ може бути використаний для лікування інфекцій, спричинених стійкими до метициліну штамами *S. aureus*. Розеофлавін виробляється виключно за допомогою хімічного синтезу, який є багатоетапним і характеризується низьким виходом цільового продукту. Тому мікробний синтез цього антибіотика обумовлює значний інтерес.

Основним ферментом біосинтезу РоФ є диметилтрансфераза – *N,N*-8-аміно-8-деметил-*d*-рибофлавіндиметилтрансфераза (RosA), який синтезує РоФ з амінорибофлавіну у двох кінцевих послідовних реакціях метилювання. У відділі молекулярної генетики і біотехнологій Інституту біології клітини НАН України було сконструйовано штами-продуценти РоФ дріжджів *C. Famata FMN1 rosA rosB* та *P. pastoris FMN1 rosA rosB*. Нами підібрано умови культивування штаму флавіногенних дріжджів *C. Famata FMN1 rosA rosB*, за яких рівень синтезу РоФ у культуральній рідині на 3–4 доби інкубації становив 0,01–0,015 мг/л (інкубацію клітин проводили при 220 об/хв за 37 °С у 300 мл колбах, що містили 50 мл YNB середовища, біомасу клітин попередньо нарощували 48 год у YPD середовищі), за початкової густини засіву клітин OD<sub>600</sub> = 5,0, а джерелом карбону була 2% глюкоза. Кількість РоФ у зразках визначали за допомогою HPLC-DAD. Питомі активності RosA-ферменту, визначені у діалізованих і недіалізованих безклітинних екстрактах суттєво не відрізнялись і становили від 0,7 до 0,8 E × 10<sup>-5</sup>/мг білка. Досліджено також кінетику росту, синтезу та продуктивність синтезу РоФ трансформантів метилотрофних дріжджів *P. pastoris FMN1 rosA rosB*. На 2–3 доби вирощування

штаму-продуцента кількість РоФ у культуральній рідині, де джерелом карбону були глюкоза або фруктоза, становила 3,0–3,5 мг/л.

Таким чином, встановлено, що трансформанти дріжджів *S. **Famata** FMN1 rosA rosB* та *P. **pastoris** FMN1 rosA rosB* здатні нагромаджувати у культуральному середовищі РоФ. Досліджено кінетику росту та підібрано умови культивування, за яких рівень синтезу РоФ є збільшений.

**Ковцун П.<sup>1,2</sup>, Зазуля А.<sup>2</sup>, Семків М.<sup>2</sup>.**

НАДЕКСПРЕСІЯ ГЕНА ФОСФОКЕТОЛАЗИ *PHK1* *ASPERGILLUS NIDULANS* ДЛЯ ПОСИЛЕННЯ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ШЛЯХУ МЕТАБОЛІЗМУ КСИЛОЗИ У ТЕРМОТОЛЕРАНТНИХ ДРІЖДЖІВ *OGATAEA POLYMORPHA*

<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

e-mail: petrokovcun1620@gmail.com

**Kovtsun P., Zazulya A., Semkiv M.** OVEREXPRESSION OF THE *PHK1* GENE OF *ASPERGILLUS NIDULANS* FOR STRENGTHENING THE PHOSPHOKETOLASE PATHWAY OF XYLOSE METABOLISM IN THE THERMOTOLERANT YEAST *OGATAEA POLYMORPHA*. The pPHK1 vector was obtained for the overexpression of the *A. nidulans* PHK1 gene under the control of the strong constitutive promoter of the *O. polymorpha* *GAP1* gene (encoding glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase). Recombinant strains of *O. polymorpha* with overexpression of the *A. nidulans* *PHK1* were obtained. Recombinant strains grow better on agar medium with xylose as the sole carbon source, producing more ethanol during 10% xylose fermentation at both 37 °C and 45 °C.

На сьогоднішній день, дуже актуальною є проблема налагодження рентабельного виробництва етанолу 2-го покоління – етанолу із відновлюваної сировини, такої як лігноцелюлоза або пектин. Однією з основних перешкод для ефективної продукції етанолу з лігноцелюлози є відсутність штамів дріжджів, що здатні до одночасного ефективного метаболізму трьох основних складових моносахаридів цього біополімеру: глюкози, ксилози та L-арабінози. D-ксилоза є другим за поширеністю цукром на планеті, та першою за відсотковою часткою пентозою. Ксилоза є одним з основних компонентів лігноцелюлозних гідролізатів, становлячи від 8 до 40% сухої маси гідролізату.

Метаболізм ксилози у дріжджів відбувається через неокислювальну частину пентозо-фосфатного шляху, гліколіз і, нарешті, синтез етанолу. Однак, у деяких ксилозо-утилізуючих дріжджів ксилулозо-5-фосфат також може метаболізуватися фосфокетолазним шляхом (Evans and Ratledge, 1984), що включає три послідовні реакції, які каталізуються ферментами фосфокетолазою (PHK), фосфотрансацетилазою та ацилюючою ацетальдегіддегідрогеназою.

Вектор для надекспресії гена фосфокетолазы *PHK1* з *A. nidulans* було кодон-оптимізовано для експресії в термотолерантних дріжджів *O. polymorpha*. Оптимізовану нуклеотидну послідовність розміром 2325 п.н. клонували у відповідні сайти попередньо сконструйованої плазмиди pUC19-GAPpr-GAPt-natNT2 (Semkiv et al., 2019), що містила сильний конститутивний промотор і термінатор ген *GAP1* *O. polymorpha* (кодує гліцеральдегід-3-фосфат), селективний маркер natNT2, який забезпечує стійкість до норзеотречину. Було отримано дріжджові трансформанти на



основі штамів *O. polymorpha* NCYC495 та ВЕР/Δcat8. Було проведено серії ферментації за температури 37 °С та 45 °С в середовищі YNB, що містило 10% ксилозу, так щоб початкова концентрація клітин в цьому середовищі становила близько 2 г/л. Ферментацію проводили при обмеженій аерації 140 об./хв. Також було проведено крапельний тест, на агаризованих середовищах YP з різними джерелами карбону (етанол, ксилоза, глюкоза).

У *O. polymorpha* NCYC/PHK1 продукція етанолу зросла в середньому в 1,9 рази порівняно з вихідним штамом. У *O. polymorpha* ВЕР/PHK9 продукція етанолу зросла в середньому в 1,1 рази. Отримані штами потребують подальшого вивчення.

**Ніштук Я.<sup>1</sup>, Стасик О.<sup>2</sup>, Стасик О.<sup>1,2</sup>**

**СПЕРМІДИН ЗА ДЕФІЦИТУ АРГІНІНУ НЕ ПІДВИЩУЄ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ,  
ПРОТЕ АКТИВУЄ АВТОФАГІЮ В КЛІТИНАХ НЕЙРОБЛАСТОМИ ЛЮДИНИ SH-SY5Y**

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

вул. Грушевського 4, Львів 79005, Україна

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

вул. Драгоманова 14–16, Львів 79005, Україна

e-mail: yaryna.nishtuk@lnu.edu.ua

**Nishtuk Y.<sup>1</sup>, Stasyk O.<sup>2</sup>, Stasyk O.<sup>1,2</sup>**. SPERMIDINE AT THE ARGININE DEFICIENCY DOES NOT INCREASE VIABILITY, BUT ACTIVATES AUTOPHAGY IN SH-SY5Y HUMAN NEUROBLASTOMA CELLS. The purpose of our study was to evaluate the effects of exogenous spermidine and deficiency of arginine on cell viability and proficiency of autophagy in the human neuroblastoma SH-SY5Y. It was shown that autophagy can be readily manipulated in neuroblastoma cells by simultaneous deprivation for arginine and spermidine treatment.

Нейробластома є злоякісною пухлиною симпатичної нервової системи, поширеною у ранньому дитячому віці. Це захворювання виникає внаслідок численних аномалій, пов'язаних із геномом, епігеномом, транскриптомом, протеомом тощо. Одним із клітинних механізмів, який пошкоджується внаслідок таких змін, є автофагія (Huang & Gu, 2020, Silva et al., 2020). Автофагія — це багатогранний життєво важливий процес у клітинах, який залежно від зовнішніх факторів може або підтримувати життєздатність клітин, або стимулювати клітинну смерть. Автофагія у клітинах нейробластоми наявна на базальному рівні (Belounis et al., 2016), проте для агресивних форм нейробластоми людини характерною є її гіперактивація (Samardzija et al., 2016). Спермідин належить до низькомолекулярних регуляторів автофагії (Eisenberg et al., 2009) і потенційно його може використовуватися *in vivo* для гіперактивації цього процесу в ракових клітинах (Chen et al., 2018), що у свою чергу призводитиме до їхньої загибелі.

Метою нашого дослідження було встановлення ефектів екзогенного спермідину та дефіциту аргініну на життєздатність та регуляцію автофагії в клітинах нейробластоми людини SH-SY5Y. Для аналізу метаболічної активності клітин під впливом різних концентрацій спермідину при культивуванні в повному та безаргініновому середовищах використовували МТТ-тест. Моніторинг автофагії за дефіциту аргініну та за дії спермідину проводили за допомогою флуоресцентної мікроскопії клітин нейробластоми зі специфічно міченими монодансилкадаверином автофагійними лізосомами. Встановлено, що дефіцит аргініну у культуральному

середовищі призводив до зупинки проліферації та зниження життєздатності клітин, а також індукції автофагії у клітинах нейробластоми людини SH-SY5Y. Спермідин у концентраціях 5 – 10 мкМ хоча індукував автофагію у клітинах SH-SY5Y, але не покращував їх виживання за дефіциту аргініну; у той же час у концентраціях понад 50 мкМ спермідин виявляв потужну цитотоксичну дію. Таким чином нами було встановлено можливість ефективної маніпуляції механізмом автофагії у клітинах нейробластоми при одночасній дії дефіциту аргініну та поліаміну спермідину.

**Mudra O.<sup>1,2</sup>, Stasyk O. V.<sup>2</sup>, Stasyk O. G.<sup>1,2</sup>**

EFFECT OF THE DOUBLE DELETION OF *GCR1* AND *HXT1* GENES ON THE  
GLUCOSE INTAKE IN THE CELLS OF METHYLOTROPHIC YEAST *OGATAEA*  
*POLYMORPHA*

<sup>1</sup> Ivan Franko National University of Lviv

4, Hrushevsky Str., Lviv, 79005, Ukraine

<sup>2</sup> Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine

14/16, Drahomanov Str., Lviv, 79005, Ukraine

e-mail: mudraolena98@gmail.com

Yeast is a convenient model eukaryotic object for research in the field of cell biology of organelles (peroxisomes, mitochondria, nuclei, etc.), signalling mechanisms for maintaining their homeostasis, mechanisms of hexose sensing and catabolite regulation. The most well-known example of catabolite regulation induced by a growth substrate such as glucose is "catabolite repression", one of the main mechanisms of transcriptional regulation of gene expression in yeast. It was previously established that the high-affinity glucose sensor/transporter Gcr1 in the methylotrophic yeast *O. polymorpha* is a unique element of the mechanism of glucose catabolite repression, in addition, a functional hexose transporter Hxt1 was identified in *O. polymorpha*, which is homolog with the low-affinity transporters of *S. cerevisiae* Hxt1 and Hxt3.

We hypothesized that two transporter-like proteins Gcr1 and Hxt1 are the main hexose transporters in *Ogataea polymorpha* cells. Therefore, the deletion of the genes encoding these proteins should lead to a complete loss of the ability to transport glucose and, accordingly, to use it as a growth substrate. The aim of our work was to investigate the effect of deletion of genes *GCR1* and *HXT1* in *O. polymorpha* cells on glucose utilization as a single carbone source.

Strains  $\Delta gcr1 \Delta met6$  and  $\Delta hxt$  were mated for obtaining double-deleted *O. polymorpha*  $\Delta gcr1 \Delta hxt1$  strain. Medium with 1% methanol and 150 mM 2-deoxyglucose without methionine was used for selection of diploid strain. After sporulation, spores were grown up on the complete medium and their phenotype was analyzed on the selective medium containing 1% methanol and 150 mM 2-deoxyglucose. The genotype of *O. polymorpha*  $\Delta gcr1 \Delta hxt1$  mutants was confirmed by PCR analysis.

Growth analysis of the *O. polymorpha*  $\Delta gcr1 \Delta hxt1$  mutant cultivated in the medium with 1 and 0,1% glucose revealed that this strains grow more slowly on the both medium compared with parental strains  $\Delta gcr1 \Delta met6$  and  $\Delta hxt$ . The obtained data indicate that glucose transport is significantly damaged and, accordingly, the metabolism of this substrate is significantly slowed down. However, the ability to grow on a medium with glucose is preserved, which indirectly indicates the presence of other hexose transporters that ensure the intake of glucose by *O. polymorpha* cells.

Thus, we can state that other hexose transporters exist in the methylotrophic yeast *O. polymorpha*, and the search for such proteins will be the next task of our research.

**Mykhalchak N.<sup>1</sup>, Dmytruk O.<sup>2</sup>, Sybirna N.<sup>1</sup>**

DEGRADATION OF CITOSOLIC ENZYME FORMATE DEHYDROGENASE IN  
METHYLOTROPHIC YEAST *KOMAGATAELLA PHAFFII*

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv  
Lviv, 4, Hrushevskogo str.*

<sup>2</sup>*Institute of Cell Biology NAS of Ukraine  
Lviv, 16, Dragomanova str.*

*e-mail: mnadlam521@gmail.com*

*K. phaffii* and some other methylotrophic yeasts are now increasingly considered as superproducers of feed protein. But to create such superproducers of industrial importance, it is important to minimize the level of degradation of the target product in the cytosol, and for this it is necessary to know the mechanism and localization of this process.

One typical cytosolic protein is formate dehydrogenase (Fdh). This is an enzyme that catalyzes the oxidation of formate-ion to carbon dioxide during the coupled reduction of NAD<sup>+</sup> to NADH(H<sup>+</sup>). Fdh is a convenient model protein for studying degradation in methylotrophs, because they are involved in the utilization of methanol (or other alcohol, in particular, glycerol) and their activity rapidly decreases after transferring cells to a medium with glucose.

We analyzed the degradation of the cytosolic protein - formate dehydrogenase in the methylotrophic yeast *Komagataella phaffii* in the wild-type strain GS200 and the strain with defective vacuolar proteases - SMD1163.

The study showed that in conditions of glucose starvation, formate dehydrogenase is actively synthesized and accumulates in the cytoplasm of yeast cells.

After transfer to medium with glucose, cells of the wild-type strain gradually lost the ability to fluorescence.

In cells of strain SMD1163, after transfer to glucose, proteolysis is not observed.

Formate dehydrogenase degrades by the vacuolar pathway, regardless of the duration of glucose starvation.

The relationship between the synthesis and degradation of formate dehydrogenase and the medium in which the strains were grown was established: cells growing on a medium with glycerol synthesized less enzyme compared to cells of the same strains growing on methanol.

**Ivasechko I.<sup>1</sup>, Yushyn I.<sup>2</sup>, Finiuk N.<sup>1</sup>, Klyuchivska O.<sup>1</sup>, Manko N.<sup>1</sup>, Stoika R.<sup>1</sup>, and Lesyk R.<sup>2</sup>**

ANTICANCER ACTIVITY OF NEW PYRIDINE-THIAZOLE-PYRIDINE  
DERIVATIVES

<sup>1</sup>*Institute of Cell Biology of NAS of Ukraine,  
14/16 Drahomanov Str., Lviv 79005, Ukraine*

<sup>2</sup>*Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry,  
Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Pekarska 69, Lviv, 79010, Ukraine  
e-mail: irynagrytsyna@gmail.com*

Cancer is viewed as a complex disease with multiple genetic alterations including altered expression of oncogenes and tumor suppressor genes, DNA repair, tumor metabolism and other dysregulations leading to overgrowth, metastasis and drug resistance. The total number of licensed anticancer drugs in 2021 counted for 270, and 243 of which

were approved by the Food and Drug Administration (FDA) (*Pan, 2021*). Besides, the majority of the effective drugs were often financially inaccessible for a big segment of the population.

Therefore, the development of anticancer molecules remains actual and the fastest growing category in pharmacology, and better understanding of the biology of carcinogenesis may lead to the development of novel promising antineoplastic molecules, and the thiazoles are among. The thiazole core is a major component of some clinically used anticancer drugs, such as thiazofurin (IMP dehydrogenase inhibitor), dasatinib (Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor), and dabrafenib (B-RAF inhibitor) (*Patel, 2019*).

The compound Les- 5303 and its derivatives - Les-6485, Les-6486 - were applied toward 15 cancer cell lines of different tissue origin. Two of them, Les-5303 and Les-6485, showed similar high antiproliferative activity. All compounds demonstrated low toxicity towards pseudo-normal and normal cells. It was shown that preincubation of tumor cells with Fluzaparib (inhibitor of PARP1) reduced in more than twice the cytotoxic activity of the derivatives Les-5303 and Les-6485. These compounds affected DNA nativity and caused morphological changes in nucleus structure, thus, suggesting that the mechanism of action of the novel pyridine-thiazole derivatives might be caused by the genetic instability in tumor cells.

Novel hybrid pyridine-thiazole derivative interacts with PAPRs in a different from the other PARP inhibitors way. This compound could be a promising chemical probe to investigate anticancer potentials alone and in combination with DNA repair protein inhibitors or DNA damage agents.

## МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

**Войтович М., Політило О., Перетятко Т., Комплікевич С.,  
Масловська О., Мороз О., Гнатуш С.**

СИНТЕЗ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ БАКТЕРІЯМИ, ВИДІЛЕНИМИ З РІЗНИХ  
БІОТОПІВ МОРСЬКОЇ АНТАРКТИКИ, ЗА ВПЛИВУ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: vojtovicmaria0906@gmail.com*

**Voitovych M., Politylo O., Peretyatko T., Komplikevych S., Maslovska O.,  
Moroz O., Hnatush S.** SYNTHESIS OF EXOPOLYSACCHARIDES BY BACTERIA  
ISOLATED FROM DIFFERENT MARINE BIOTOPES OF THE ANTARCTIC UNDER  
THE INFLUENCE OF HEAVY METAL COMPOUNDS. *Pseudomonas sp.* 3B-in-57,  
*Pseudarthrobacter sp.* 2B-K-54, *Pedobacter sp.* 2U-K-37, *Paenarthrobacter sp.* 2B-in-78,  
*Flavobacterium sp.* 2B-in-99 bacteria, isolated from different biotopes of marine Antarctica,  
synthesize increased amount of exopolysaccharides under the influence of heavy metals.  
Possibly, it plays significant role in the adaptation of microorganisms to the influence of  
heavy metal compounds.

В різних біотопах Антарктики виявлено високий вміст сполук багатьох важких металів, переважно, купруму, плумбуму та меркурію. Згоряння палива, спалювання відходів, випадкові розливи нафти та утилізація стічних вод є одними з основних джерел забруднення сполуками важких металів на цьому материкі. Локальним джерелом забруднення є лише дослідницькі станції, тому, очевидно, що глобальні хімічні забруднювачі антропогенного походження потрапляють в Антарктиду з інших материків. У зв'язку з високою токсичністю, мобільністю та здатністю до біоаккумуляції йони важких металів є однією із пріоритетних загроз для будь-яких живих організмів та для стабільності екосистем. Важкі метали не розкладаються та накопичуються у кожній з ланок харчового ланцюга і можуть зберігати свою біологічну активність тривалий час (Priyadarshane, 2020).

Низка видів бактерій можуть відновлювати йони важких металів, трансформуючи їх у розчинні форми. Крім того, антарктичні мікроорганізми можуть синтезувати біологічно активні речовини – екзополісахариди, що є однією із головних стратегій захисту мікробних клітин від впливу токсичних речовин. Екзополісахариди, синтезовані мікроорганізмами, є нетоксичними, біосумісними та біодеградабельними полімерами, які широко застосовують в різних галузях промисловості (Banerjee, 2021) і можуть бути потенційним інструментом для біоремедіаційних процесів (Ates, 2015).

Метою роботи було дослідити закономірності синтезу екзополісахаридів бактеріями, виділеними з різних біотопів морської Антарктики, за впливу сполук важких металів. Вміст екзополісахаридів визначали після культивування бактерій *Pseudomonas sp.* 3B-in-57, *Pseudarthrobacter sp.* 2B-K-54, *Pedobacter sp.* 2U-K-37, *Paenarthrobacter sp.* 2B-in-78, *Flavobacterium sp.* 2B-in-99 у триптон-соевому агарі за внесення  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1–20 мМ),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,5–20 мМ),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (1–6 мМ),  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (0,1–10 мМ),  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  (0,002–0,5 мМ).

Бактерії *Pseudarthrobacter sp.* 2B-K-54 за впливу 15–20 мМ  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  синтезували в 1,6–1,7 разів більше екзополісахаридів порівняно з контролем. За

внесення у середовище культивування 0,01 мМ  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  виявлено 11,9 мг екзополісахаридів/г біомаси, що в 1,9 разу більше порівняно з контролем. За впливу 10–20 мМ  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  бактерії *Pedobacter* sp. 2U-K-37 синтезували 7,3–10,4 мг екзополісахаридів/г біомаси, за внесення 15 мМ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 8,5 мг/г, що значно більше контрольних значень. *Paenarthrobacter* sp. 2B-in-78 синтезували 9,3–10,0 мг екзополісахаридів/г біомаси за впливу 10–15 мМ  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 11,6 мг екзополісахаридів/г біомаси за внесення 4 мМ  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Крім того, за впливу 0,5–10 мМ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  бактерії синтезували екзополісахаридів в 1,5–1,8 разів більше порівняно з контролем. За впливу 5–20 мМ  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  бактерії *Flavobacterium* sp. 2B-in-99 синтезували 6,2–22,2 мг екзополісахаридів/г біомаси, що в 2,7–9,6 разів більше порівняно з контролем.

Виявлено суттєве зростання вмісту екзополісахаридів за впливу сполук важких металів на бактерії *Pseudomonas* sp. 3B-In-57. За внесення 1–5 мМ  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  бактерії синтезували в 3,0–3,3 рази більше екзополісахаридів порівняно з контролем, за внесення 5–20 мМ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – у 2,6–3,9 разів, 3–6 мМ  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – у 2,4–6,4 разів, 2–5 мМ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  – у 5,7 разу, 0,05 мМ  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  – у 5,2 разу. *Pseudomonas* sp. 3U-Men-13 за впливу 1–15 мМ  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  синтезували 2,9–10,4 мг екзополісахаридів/г біомаси, що в 1,5–6,6 разів більше порівняно з контролем. За внесення 0,01–0,05 мМ  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$  вміст екзополісахаридів був в 1,8–3,3 разів більшим, 1 мМ  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – у 6 разів більшим порівняно з контролем.

Синтез підвищених кількостей екзополісахаридів бактеріями, виділеними з різних біотопів морської Антарктики, можливо, відіграє важливу роль в адаптації мікроорганізмів до впливу сполук важких металів

**Гембара М., Мороз О., Яворська Г., Гнатуш С.**

**ВІДНОВЛЕННЯ ЙОНІВ СУЛЬФАТУ БАКТЕРІЯМИ *DESULFOVIBRIO* SP.  
ЗА ВПЛИВУ НАТРІЙ НІТРАТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: msriana.com@gmail.com*

**Hembara M., Moroz O., Yavorska H., Hnatush S.** REDUCTION OF SULFATE IONS BY BACTERIA *DESULFOVIBRIO* SP. UNDER THE INFLUENCE OF SODIUM NITRATE. It was established that sodium nitrate is toxic to bacteria and inhibits the biomass accumulation by them. When two electron acceptors at concentration of 3.47 mM simultaneously were added to the medium, the efficiency of  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NO}_3^-$  reduction decreased 2.5–3.8 and 1.4–1.6 times, respectively, compared to the medium with only sulphate or nitrate ions.

Основна роль в утворенні гідроген сульфід у природі належить сульфатвідновлювальним бактеріям. Вони використовують сульфати та інші окиснені сполуки сульфуру як акцептори електронів у процесі дисиміляційної сульфатредукції, донорами електронів при цьому є молекулярний водень або органічні субстрати (Мороз та ін., 2017). Особливо важливу роль сульфатвідновлювальні бактерії відіграють у місцях розробки сіркових родовищ, де внаслідок природного окиснення сірки утворюється величезна кількість сульфатів, які відновлюються цими мікроорганізмами до гідроген сульфід (Мороз, 2010; Гудзь та ін., 2011; Тарабас та ін., 2017). Відомо, що сульфатвідновлювальні бактерії, окрім сульфатів, можуть відновлювати нітрати, нітрити, окиснені форми важких металів (Галушка та ін., 2007;

Moroz et al., 2022). Нітрати можуть бути використані ними як акцептори електронів у процесі анаеробного дихання, хоча за високих концентрацій вони виявляють на бактерії більш чи менш виражену токсичну дію (Мороз та ін., 2018; Moroz et al., 2020). Метою роботи було визначити рівні відновлення йонів сульфату і нітрату за їх одночасної присутності у середовищі штамами сульфатвідновлювальних бактерій роду *Desulfovibrio*, виділеними з озера Яворівське.

Бактерії *Desulfovibrio desulfuricans* IMB K-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-6, *Desulfovibrio* sp. Yav-8 вирощували у середовищі Кравцова-Сорокіна без сульфатів за анаеробних умов упродовж 10 діб за температури 28–30 °C (Гудзь та ін., 2014). Густина засіву становила 0,2 г/л. У середовище вносили стерильні 1 М розчини  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$  та  $\text{NaNO}_3$  за концентрацій 1,74 (вдвічі менша, порівняно із стандартним вмістом  $\text{SO}_4^{2-}$  у середовищі Кравцова-Сорокіна, рівним 3,47 мМ) або 3,47 мМ. Біомасу клітин визначали турбідиметричним методом, концентрації сульфатів і нітратів у культуральній рідині – спектрофотометричним методом (Гудзь та ін., 2014).

У середовищі, до якого додавали  $\text{NaNO}_3$  (1,74 або 3,47 мМ), біомаса клітин була меншою на 7,5–17,8 та 8,7–12,3%, відповідно, порівняно зі середовищем з  $\text{NaSO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$  за тих самих концентрацій. Тому встановили, що нітрати є токсичними та інгібують накопичення бактеріями біомаси. У середовищі з 1,74 мМ  $\text{NaSO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$  та 1,74 мМ  $\text{NaNO}_3$  спостерігали зниження ефективності відновлення йонів сульфату та нітрату у 2,0–2,3 та 1,4–1,6 рази, відповідно, порівняно з середовищем, яке містило лише  $\text{SO}_4^{2-}$  або  $\text{NO}_3^-$ . У середовищі з 3,47 мМ  $\text{NaSO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$  та 3,47 мМ  $\text{NaNO}_3$  відбувалося зниження ефективності відновлення йонів сульфату та нітрату у 2,5–3,8 та 1,4–1,6 рази, відповідно, порівняно зі середовищем, яке містило лише йони сульфату або нітрату. Рівень відновлення йонів нітрату клітинами у середовищі з однаковим вмістом йонів нітрату та сульфату перевищував рівень використання бактеріями йонів сульфату, можливо, у зв'язку із значно вищим окисно-відновним потенціалом  $\text{NO}_3^-$  як акцептора електронів анаеробного дихання, ніж  $\text{SO}_4^{2-}$ .

Отже, встановили, що за умов одночасного внесення за рівних концентрацій  $\text{SO}_4^{2-}$  та  $\text{NO}_3^-$  у середовище культивування бактерій нітратредукція здійснювалася ними більш інтенсивно. Бактерії роду *Desulfovibrio* перспективні для використання у технологіях комплексного очищення довкілля від йонів сульфату та нітрату як за наявності у середовищі кожного акцептора окремо, так і за присутності обох одночасно.

**Данило І., Комплікевич С., Масловська О., Гнатуш С.**

МІКРОБІОТА *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* (О. ГАЛІНДЕЗ, МОРСЬКА АНТАРКТИКА)

Львівський національний університет імені Івана Франка

Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

e-mail: irinadanilo98@gmail.com

**Danylo I., Komplikevych S., Maslovska O., Hnatysh S.** MICROBIOTA OF *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* (GALINDEZ ISLAND, MARITIME ANTARCTIC). The number of microorganisms of different groups of the rhizosphere zone and endophytic microorganisms of *Deschampsia antarctica* (Arctowski–Puchalski plain, Galindez Island) was studied. Oligonitrophilic microorganisms were the most numerous in the rhizospherezone. Nitrifying microorganisms predominated among endophytes. From the investigated samples of *Deschampsia antarctica*, 30 isolates, which formed morphologically distinct colonies on agar media, were obtained.

Антарктичні мікроорганізми здатні виживати в екстремальних умовах середовища і синтезувати біологічно цінні сполуки. На них впливають обмежений вміст поживних речовин, низька вологість, часті цикли замерзання–відтавання, низькі температури тощо. Абіотичні чинники є основними факторами, що впливають на ріст та врожайність рослин. Бактерії сприяють росту рослин внаслідок синтезу фітогормонів, наприклад, індолоцтової кислоти, гіберелінів, біосурфактантів і сидерофорів. Із ґрунту Антарктики та ризосфери *Deschampsia antarctica* виділено штами *Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea dispersa*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas lurida* M2RH3, *Psychrobacter sp.* ANT\_H59 і *Bacillus sp.* ANT\_WA51, які були здатні розчиняти фосфоровмісні сполуки (Berríos et al., 2013). У клітинах мікроорганізмів виникли декілька механізмів мінералізації і мобілізації фосфоровмісних сполук, які забезпечують поповнення внутрішньоклітинного пулу фосфору. На здатність розчиняти фосфати мікроорганізмами впливає температура, рН, солоність та вміст кисню у середовищі. Метою роботи було дослідити чисельність та властивості мікроорганізмів, виділених зі зразків *Deschampsia antarctica*, відібраних на рівнині Arctowski–Puchalski на острові Галіндез.

Виділення чистих культур мікроорганізмів з антарктичних зразків здійснювали із застосуванням класичних мікробіологічних методів культивування на триптон-соевому агарі, голодному агарі, середовищах Ешбі, крохмально-аміачному, Виноградського для нітрифікаторів, середовищах Піковської, Менкіної та середовищі з карбоксиметилцелюлозою. Поверхневу стерилізацію рослин робили згідно з (Barraetal, 2016).

Досліджено чисельність мікроорганізмів різних груп зони ризосфери та ендofітних мікроорганізмів *Deschampsia antarctica* (рівнина Arctowski–Puchalski, о. Галіндез). Чисельність мікроорганізмів у зоні ризосфери була в межах  $0,9\text{--}1,8 \times 10^6$  КУО/г сухого ґрунту. Найбільш чисельною групою є олігонітрофільні мікроорганізми. Чисельність ендofітних мікроорганізмів була меншою і становила  $0,7 \times 10^4\text{--}1,6 \times 10^6$  КУО/г сухої маси. Серед них найбільше було нітрифікувальних мікроорганізмів. Із досліджуваних зразків *Deschampsia antarctica* відібрано 30 ізолятів, які на агаризованих середовищах формували морфологічно відмінні колонії. Відбирали мікроорганізми, які метаболізують нітроген органічних сполук, оліготрофні та олігонітрофільні мікроорганізми, мікроорганізми, які метаболізують неорганічні сполуки нітрогену, мікроскопічні гриби, мікроорганізми, які здійснюють I та II фази нітрифікації, мікроорганізми, які метаболізують фосфатовмісні органічні та неорганічні сполуки та целюлозоруйнівні мікроорганізми.

**Качмар Н., Менів Н., Галушка А., Гнатуш С.**

**ВПЛИВ СОЛЕЙ КУПРУМУ(II) ТА ПЛЮМБУМУ НА БАКТЕРІЇ  
РОДИ *AZOTOBACTER*  
ТА *STREPTOMYCES*, ВИДІЛЕНІ З ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО  
ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ**

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

**Kachmar N., Meniv N., Halushka A., Hnatush S.** EFFECT OF COPPER (II) AND LEAD SALTS ON BACTERIA OF *AZOTOBACTER* AND *STREPTOMYCES* GENERA, ISOLATED FROM CHERVONOHRA D MINING REGION. Low concentrations of copper (II) sulphate (0.02 mm and 0.2 mm) practically did not affect the growth of *Azotobacter sp.* CEF-4 and *Streptomyces sp.* CEF-13 bacteria. High concentrations of salt



(1.7 and 3.6 mM) had a negative effect on the growth of bacteria. At the presence of 0.0035 and 0.035 mM  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  in the medium the biomass of bacteria *Azotobacter* sp. CEF-4 and *Streptomyces* sp. CEF-13 was almost indistinguishable from controls. An increase in the concentration of lead nitrate to 0.35 mM inhibited the growth of the tested bacteria.

Промислові відходи Червоноградського гірничопромислового району, як-от важкі метали, сполуки сульфуру тощо, є основними джерелами забруднення ґрунтів та порушують екологічну рівновагу цих територій (Сиса, Мякуш, 2020). Наявність токсичних металів у ґрунті може серйозно пригнічувати біодеградацію органічних забруднювачів, становити ризики та небезпеку для людей і екосистеми (Wuana, Okiyeimen, 2011). Водночас, території, забруднені важкими металами, є джерелом толерантних популяцій мікоризних грибів, актинобактерій, ризосферних бактерій, які впливають на рухливість мікроелементів та їх доступність (Hanus-fajerska et al., 2015).

Бактерії *Azotobacter* spp. чутливі до малих концентрацій важких металів (Athar, Ahmad, 2001). З огляду на це, особливості росту окремих штамів азотофіксуючих мікроорганізмів за наявності йонів важких металів мають прикладне значення у моніторингу ґрунтів чутливі штами бактерій роду *Azotobacter* можна використовувати як тест-культури на забруднення  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  і  $\text{Zn}^{2+}$  (Іутинська, 2006). Найстійкішими до забруднення йонами важких металів є мікроміцети, дріжджі, деякі тїонові бактерії та патогенні мікроорганізми. Менш стійкими є мікобактерії, актинобактерії. Серед стрептоміцетів виявлено чутливі та стійкі до металів штами. Ці бактерії, засвоюючи йони металів у необхідних для життєдіяльності кількостях, спроможні тимчасово виключати їх з кругообігу і зменшувати їх негативний вплив на рослини.

Дослідили вплив купрум (II) сульфату і плюмбум нітрату на бактерії *Azotobacter* sp. CEF-4 та *Streptomyces* sp. CEF-13, виділені з Червоноградського гірничопромислового району. Купрум (II) сульфат за концентрацій 0,02 та 0,2 мМ на 1-3 доби не впливав на ріст бактерій *Azotobacter* sp. Різке зниження приросту біомаси за концентрації 0,2 мМ, порівняно з контролем, спостерігали на шосту добу. За високих концентрацій солі (1,7 та 3,6 мМ) ріст бактерій повністю пригнічувався. За концентрацій  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  у середовищі 0,0035 та 0,035 мМ нагромадження біомаси бактерій *Azotobacter* sp. CEF-4 майже не відрізнялося від контролю. Зростання концентрації плюмбум нітрату до 0,35 мМ пригнічувало ріст досліджуваних бактерій (на 22 % на 2 добу росту).

Купрум (II) сульфат за концентрацій 0,02 та 0,2 мМ незначно впливав на ріст *Streptomyces* sp. Високі концентрації (1,7, 3,6, 18 мМ) пригнічували ріст досліджуваних мікроорганізмів. Суттєве зниження нагромадження біомаси бактерій *Streptomyces* sp. CEF-13 у середовищі з плюмбум нітратом реєстрували за концентрації 0,35 та 1,6 мМ упродовж шести діб культивування (на 33 та 45%, відповідно, на другу добу росту). Нагромадження біомаси за нижчих концентрацій (0,0035, 0,035, 0,2 мМ) не відрізнялося від контролю.

1,7 мМ купрум (II) сульфату та 0,2 мМ плюмбуму нітрату – це середні концентрації рухомих форм цих металів у відвалі Центральної збагачувальної фабрики "Червоноградська" (Баранов та ін., 2010). З цього випливає, що обидва штами виявилися чутливими до середніх концентрацій купрум (II) сульфату і максимальних концентрацій плюмбуму нітрату у відвалі.

**Кирдій Е., Дуда О., Перетятко Т., Галушка А.**

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ БАКТЕРІЙ РОДУ *CLOSTRIDIUM*,  
ВИДІЛЕНИХ З КИШЕЧНИКА ЩУРІВ, ХВОРИХ НА ВИРАЗКОВИЙ КОЛІТ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: elvirakirdii@gmail.com*

**Kyrdii E., Duda O., Peretyatko T., Halushka A.** IDENTIFICATION AND PROPERTIES OF STRAINS OF CLOSTRIDIUM GENUS BACTERIA ISOLATED FROM THE INTESTINE OF RATS WITH ULCERATIVE COLITIS. Two strains of sulphate-reducing bacteria were isolated from the intestine of rats with ulcerative colitis. They were identified as the representatives of *Clostridium* genus using morphological, physiological and genetic properties. *Clostridium* sp. KA-1a and *Clostridium* sp. PT-2a bacteria from spores, are motile, are not capable for growth at the presence of NaCl. Bacteria utilize pyruvate, caseine, peptone as the carbon source and  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  as the acceptors of electron. Bacteria had different sulfidogenic activity depending on the initial sulphate ion concentration.

Виразковий коліт – це запальне захворювання кишечника, яке найчастіше реєструють серед населення розвинених країн Західної Європи, США та Нової Зеландії (Nascimento, 2020). Сульфатвідновлювальні бактерії виявляють у товстому кишечнику здорових людей і тварин, а також за розвитку виразкового коліту, хвороби Крона та інших запальних захворювань кишечника (Kovacetal., 2018). Сульфатвідновлювальні бактерії є частиною автотної мікробіоти кишечника, але велика їх кількість і, як наслідок підвищений вміст гідроген сульфід у кишечнику, може бути однією із причин розвитку виразкового коліту (Figliuoloetal., 2017).

Метою роботи було ідентифікувати бактерії, виділені з кишечника щурів, хворих на виразковий коліт, і встановити їх морфологічні, фізіологічні та біохімічні властивості. Ідентифікацію бактерії проводили на основі морфологічних властивостей і за результатами порівняння нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК. Пошук гомологічних послідовностей до генів 16S рРНК виділених штамів бактерій проводили із використанням програми BLASTN. Для визначення здатності бактерій до спороутворення суспензію клітин після її прогрівання на водяній бані за 70–95 °С висівали у середовище Постгейта В. Галотолерантність бактерій досліджували у середовищі Постгейта С, до якого вносили NaCl у концентраціях 5, 10, 20, 40 і 60 г/л. Для визначення здатності сульфатвідновлювальних бактерій використовувати різні джерела карбону їх вирощували у рідкому модифікованому середовищі Постгейта С, до якого замість натрій лактату вносили ферментативний казеїн (5 г/л); пептон (5 г/л); гістидин (4,1 г/л); лізин (3,9 г/л); метіонін (4,8 г/л); серин (5,5 г/л); піруват (2,2 г/л). Для дослідження здатності бактерій використовувати різні акцептори електронів використовували модифіковане середовище Постгейта С, у якому замість сульфат-йонів вносили йони тіосульфату, сульфіту і елементну сірку. Вміст сульфат-йонів визначали турбідиметрично. В ролі стабілізатора суспензії використовували гліцерин. Кількість гідроген сульфід, що утворився в процесі дисиміляційного відновлення сульфату, визначали у культуральній рідині фотометрично з використанням *n*-амінодиметиланіліну.

Послідовність нуклеотидів гена 16S рРНК бактерій *Clostridium* sp. KA-1a має високі значення ідентичності щодо послідовностей гена 16S рРНК штамів *Clostridium thiosulfatireducens* LUP-21 (97%), *Clostridium subterminale* LGM-B7 (96%), *Clostridium*

*sulfidigenes* BL (96%), *Paraclostridium bifermentans* MTL-4 (96,5%). Послідовність нуклеотидів гена 16S рРНК *Clostridium* sp. PT-2а має високі значення ідентичності щодо послідовностей гена 16S рРНК штамів *Clostridium merdae* Marseille-P2953 (97%), *Clostridium jeddahense* JSD (98%), *Clostridium sporosphaeroides* ASW3.2 (97%), *Escherichia coli* NBRC 102203 (97%). Бактерії *Clostridium* sp. КА-1а і *Clostridium* sp. PT-2а утворюють спори, рухомі, не ростуть за наявності NaCl. Як джерело карбону бактерії використовують піруват, казеїн, пептон, як акцептори електронів –  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ . Залежно від вихідної концентрації йонів сульфату бактерії мають різну сульфідогенну активність.

**Кирилів У., Дмитрук О., Галушка А.**

ДЕГРАДАЦІЯ ФОРМАЛЬДЕГІДДЕГІДРОГЕНАЗИ У КЛІТИНАХ  
МЕТИЛОТРОФНИХ ДРІДЖДІВ *KOMAGATAELLA PHAFFII*

Львівський національний університет імені Івана Франка

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

e-mail: kyryliv.u@gmail.com

**Kyryliv U., Dmytruk O., Halushka A.** THE MECHANISMS OF DEGRADATION OF FORMALDEHYDE DEHYDROGENASE IN METHYLOTROPHIC YEAST *KOMAGATAELLA PHAFFII*. The methylotrophic yeast *Komagataella phaffii* (formerly *Pichia pastoris*) is widely used for the production of recombinant proteins for basic and applied research. Due to the instability of heterologous proteins during their over synthesis, studying the mechanisms of degradation of cytosolic proteins in methylotrophic yeasts is an important task. One of the typical cytosolic proteins is Fld1 (formaldehyde dehydrogenase). It is a convenient model protein for studying degradation pathways in methylotrophs. The aim of this work was to analyze the degradation of formaldehyde dehydrogenase in the methylotrophic yeast *Komagataella phaffii* by the wild-type strain GS200 and the strain with defective vacuolar proteases – SMD1163.

Метилотрофні дріжджі *Komagataella phaffii* (раніше *Pichia pastoris*) широко використовують для виробництва рекомбінантних білків для фундаментальних і прикладних досліджень. Однією з невирішених проблем є стабільність гетерологічних білків під час їх надсинтезу. Тому вивчення механізмів деградації цитозольних білків у метилотрофних дріжджів є надзвичайно важливим завданням. Одним з типових цитозольних білків є *Fld1* (формальдегіддегідрогеназа). Це ензим, який каталізує окиснення формальдегіду до форміату з паралельним відновленням НАД<sup>+</sup>. *Fld1* є зручним модельним білком для вивчення шляхів деградації у метилотрофів, оскільки вони беруть участь в утилізації метанолу (чи іншого спирту, зокрема, гліцеролу) і їх активність знижується після перенесення клітин на середовище з глюкозою.

Метою цієї роботи було проаналізувати деградацію формальдегіддегідрогенази у клітинах дикого типу дріжджів *Komagataella phaffii* GS200і у клітинах штаму SMD1163з дефектними вакуолярними протеазами. Показано, що в умовах глюкозного голодування формальдегіддегідрогеназа активно синтезується і нагромаджується в цитоплазмі дріжджових клітин. Після перенесення на середовище з глюкозою, клітини штаму дикого типу поступово втратили здатність до флюоресценції, що є наслідком деградації формальдегіддегідрогенази. У клітинах штаму SMD1163 після перенесення на глюкозу деградації формальдегіддегідрогенази не спостерігали.

Формальдегіддегідрогеназа деградує вакуолярним шляхом незалежно від тривалості глюкозного голодування. Виявлено взаємозв'язок між синтезом і деградацією формальдегіддегідрогенази та середовищем, на якому вирощували штами. Встановлено, що за росту на середовищі з гліцеролом, синтезували менше ферменту, порівняно з клітинами цих же штамів, за росту на метанолі.

**Кузеляк Х.<sup>1</sup>, Яворська Г.<sup>1</sup>, Воробець Н.<sup>2</sup>**

**АНТИМІКРОБНА ТА АНТИКАНДІДОЗНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ З  
ЛИСТКІВ ВИДІВ РОДУ *HEMEROCALLIS***

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

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79000, Україна

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

вул. Пекарська, 73, м. Львів, 79000, Україна

e-mail: KHRYSTYNA.KUZELIAK@lnu.edu.ua

**Kuzeliak K.<sup>1</sup>, Yavorska H.<sup>1</sup>, Vorobets N.<sup>2</sup> ANTIBACTERIAL AND ANTICANDIDAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM *HEMEROCALLIS* SPP. LEAVES.** The antibacterial and anticandidal activity of *Hemerocallis fulva* and *Hemerocallis citrina* leaves samples against five *Candida* spp and six bacterial strains was evaluated by measuring the zones of inhibition in the standard disk diffusion method with the help of glass cylinders and wells. Aqueous extract and extracts prepared with 20%, 60% and 96% aqueous-ethanol as solvent of *Hemerocallis fulva* and *Hemerocallis citrina* inhibited the growth of bacterial cultures with diameter of the growth retardation zone from 7 to 21 mm. However, only extracts from these plant samples prepared with 96% aqueous ethanol had negligible little effect on *Candida* cultures.

Рослинні екстракти здавна широко використовували люди, зокрема з лікувальними цілями. Однак є багато видів рослин, корисні властивості яких ще не вивчено. *Hemerocallis* (Лілійник) – рід рослин, види якого використовують здебільшого для озеленення, але деякі з них мають лікувальні властивості. Встановлено, що багато біоактивних компонентів в складі різних органів лілійників демонструють різноманітну фармакологічну дію, зокрема, антидепресивну, антибактеріальну, протипухлинну, антиоксидантну та заспокійливу (Lietal., 2021). Проте вплив екстрактів листків з рослин роду *Hemerocallis* на мікроорганізми достеменно не вивчено. Тому метою роботи було дослідження антимікробної та антикандидозної активності водних та водно-етанольних екстрактів, отриманих з листків *Hemerocallis fulva* та *Hemerocallis citrina*.

Для дослідження використовували водні і водно-етанольні екстракти, виготовлені з листків *H. fulva* та *H. citrina* згідно Державної фармакопеї України (співвідношення наважка: екстрагент = 1:20 (маса, г/об'єм, мл). Водно-етанольні витяжки готували з 20, 60 і 96% етанолом методом настоювання («мацерації») в темноті упродовж 14 діб. Водні витяжки у тому ж співвідношенні готували на киплячій водній лазні упродовж 30 хв з оберненим холодильником. Антибактерійну та антикандидозну дію екстрактів виявляли методом дифузії в щільне середовище, в якому 0,2 мл водного або водно-етанольного екстракту зі скляних циліндриків чи лунок дифундує в агар. Використовували однодобові тест-культури бактерій: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*) та дводобові дріжджів: *C. pseudotropicalis*, *C. curvata*, *C. kefir*, *C. parapsilosis*, *C. tenuis* з музею культур кафедри мікробіології ЛНУ ім. Івана

Франка. Для посіву газоном 0,2 мл суспензії на середовище (для бактерій – МПА, для дріжджів – сусло-агар) застосовували шпатель Дригальського. Засіяні чашки Петрі поміщали в термостат за температури 28 °С. Діаметр зони затримки росту (ДЗЗР) вимірювали у міліметрах за допомогою лінійки через 24 год для бактерій і 48 год – для дріжджів. За ДЗЗР більше 10 мм культуру вважали чутливою до дії досліджуваного екстракту.

Встановлено, що ефект пригнічення росту мікроорганізмів не залежить від екстрагента, оскільки водні і водно-етанольні екстракти впливали на ріст досліджуваних культур. Такий вплив радше залежав від використаного методу для дослідження й, очевидно, особливостей самих культур. Досліджувані екстракти інгібували ріст усіх культур бактерій з ДЗЗР від 7 до 21 мм. Однак, щодо впливу на досліджувані культури дріжджів роду *Candida*, то він виявився іншим. На *C. pseudotropicalis*, *C. kefir*, *C. parapsilosis* і *C. tenuis* незначно впливали 96% екстракти з *H. fulva*, на *C. pseudotropicalis*, *C. curvata* і *C. parapsilosis* – з *H. citrina* (ДЗЗР 10–12 мм). Усі інші досліджені екстракти не впливали на кандід. Отже, отримані результати вказують на те, що екстракти з *Hemerocallis fulva* та *Hemerocallis citrina* є перспективними щодо вивчення їхніх антибактерійних властивостей.

**Марків О., Звір Г., Гнатуш С., Комплікевич С., Масловська О.**  
КИСЛОТУТВОРЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ АНТАРКТИЧНИХ ШТАМІВ  
АЗОТОФІКСУВАЛЬНИХ ТА ОЛІГОНІТРОФІЛЬНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ  
*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*  
*e-mail: markivoleg5@gmail.com*

**Markiv O., Zvir G., Hnatush S., Komplikevych S., Maslovska O.** ACID FORMATION BY ANTARCTIC STRAINS OF NITROGEN FIXING AND OLIGONITROPHILIC MICROORGANISMS. It was established that Antarctic strains of nitrogen fixing and oligonitrophilic microorganisms isolated from Galindez grow on an elective medium for *Azotobacter chroococcum*. Assimilating some carbohydrates as carbon source the strains produce acid and dissolve the calcium carbonate.

Незважаючи на екстремальні екологічні умови, вільні від льоду території Антарктики містять чисельні та різноманітні спільноти мікроорганізмів, які здійснюють кругообіг поживних речовин і впливають на функціонування екосистем. Антарктичні ґрунти в основному оліготрофні, з поширеними стехіометричними дисбалансами (Dennis, 2019). Доступність загального нітрогену змінюється значною мірою в різних біогеографічних зонах. У деяких регіонах Антарктики концентрація сполук нітрогену дуже низька (Ortiz, 2020). Зважаючи на це, роль азотофіксувальних мікроорганізмів є вирішальною у збагаченні ґрунтів азотом та у функціонуванні біогеоценозу загалом. Більшість дослідників вважає, що продукування азотистих сполук в арктичних та субарктичних екосистемах здійснюють ціанобактерії. Роль інших таксонів антарктичних мікроорганізмів в діазототрофії вивчена недостатньо (Eckford et al., 2002; Nobara, 2006; Ortiz et al., 2020). Тому метою роботи було виділення з антарктичних зразків, відібраних на о. Галіндез, азотофіксувальних та олігонітрофільних мікроорганізмів та дослідження їхніх фізіологічних властивостей.

Для виділення антарктичних штамів азотофіксувальних та олігонітрофільних мікроорганізмів використовували агаризоване середовище Ешбі (Гудзь, 2012). Культивування здійснювали за температури 28±2 °С. На середовищі Ешбі ізоляти

росли повільно, утворюючи дрібні колонії. Надалі їх пересівали короткими штрихами на елективне середовище для *Azotobacter chroococcum*, яке містило (г/л): глюкоза – 20,0;  $K_2HPO_4$  – 0,8;  $CaCO_3$  – 20,0;  $FeCl_3 \times 6H_2O$  – 0,1;  $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$  – 0,005; агар – 20; вода дистильована – 1 л. Культивували за температури  $28 \pm 2$  °С. Через тиждень на чашках з елективним середовищем навколо штрихів помічено утворення прозорих ділянок унаслідок розчинення  $CaCO_3$ , який входить до складу середовища. Розчинення кальцію карбонату, на нашу думку, відбувалося унаслідок утворення кислоти дослідженими ізолятами. Здатність антарктичних штамів до кислотоутворення виявлена завдяки додаванню до середовища спиртового розчину бромтимолового синього. Утворення кислоти спостерігали і у елективному для *A. chroococcum* середовищі, у яке вносили замість глюкози манозу, фруктозу, лактозу, арабінозу як джерело карбону. Утворення прозорих ділянок навколо колоній унаслідок розчинення  $CaCO_3$  спостерігали на чашках з арабінозою та лактозою. Прозорі ділянки найшвидше (у перший тиждень) утворювалися на елективному для *A. chroococcum* середовищі (з глюкозою), пізніше на середовищі з арабінозою, а до кінця другого тижня – на середовищі з лактозою. Під час росту антарктичних штамів азотофіксуювальних та олігонітрофільних мікроорганізмів на середовищі з фруктозою та манозою спостерігали кислотоутворення без розчинення  $CaCO_3$ .

**Мелевич Я., Нейлюк М., Шимончук Т., Мороз О., Яворська Г., Гнатуш С.**  
**ВПЛИВ СПОЛУК БРОМУ ТА ФЛУОРУ НА ОКИСНЕННЯ НІТРИТ-ЙОНІВ**  
**ПУРПУРОВИМИ СІРКОБАКТЕРІЯМИ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна;*  
*e-mail:melevich.yana147@gmail.com*

**Melevych Y., Nejluk M., Shymonchuk T., Moroz O., Yavorska H., Hnatysh S.**  
**THE INFLUENCE OF BROMINE AND FLUORINE COMPOUNDS ON THE**  
**OXIDATION OF NITRITE IONS BY PURPLE SULFUR BACTERIA.** Potassium bromide and sodium fluoride in the Van Niel medium at concentrations 0.5–4.0 times different from the maximum permissible concentration affect the biomass accumulation, inhibit the nitrite ions oxidation and the nitrate ions formation by bacteria *Lamprocystis* sp. Ya-2003 and *Thiocapsa* sp. Ya-2003.

Пурпурові сіркобактерії – це анаеробні фотосинтезувальні мікроорганізми, які широко розповсюджені в освітлених ділянках прісних і солоних водойм з високим вмістом сполук сульфуру (Imhoff, 2017). У техногенних водних екосистемах фототрофні сіркобактерії відіграють важливу роль у відновленні балансу хімічних елементів: карбону, сульфуру та нітрогену. Вони забезпечують окиснювальну трансформацію сульфідів, тіосульфатів, нітритів, використовуючи їх як донори електронів у процесі аноксигенного фотосинтезу (Hemp et al., 2016; Stal et al., 2017; Hallenbeck, 2017; Tarabas et al., 2019). Проте невідомо, чи неорганічні токсиканти, зокрема, галогеніди, можуть впливати на фізіологічні процеси у клітинах пурпурових сіркобактерій і тим самим змінювати процеси очищення забруднених водойм. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив неорганічних забруднювачів – сполук бромю та флуору, на ріст, окиснення нітритів, нагромадження нітратів клітинами пурпурових сіркових бактерій, виділених з озера Яворівське.

Бактерії *Lamprocystis* sp. Ya-2003 та *Thiocapsa* sp. Ya-2003 культивували протягом 10 діб у середовищі ван Ніля з натрій нітритом (4,2 мМ) та неорганічними

забруднювачами KBr і NaF за безкисневих умов, температури 28 °C і освітлення інтенсивністю 150-200 лк (Гудзь та ін., 2014). Густина засіву становила 0,2 г/л. Калій бромід та натрій фторид додавали до середовища за гранично допустимих концентрацій (ГДК) 0,0025 мМ і 0,0789 мМ, відповідно, та за концентрацій, які відрізняються від ГДК у 0,5; 2,0; 3,0; 4,0 рази. Як контроль використовували середовище без забруднювачів. Біомасу бактерій визначали турбідиметричним методом, вміст нітрит- та нітрат-йонів у культуральній рідині – спектрофотометричним методом (Гудзь та ін., 2014).

Встановили, що додавання у середовище неорганічних забруднювачів, калій бромиду та натрій флуориду, за концентрацій, які перевищували ГДК у 3,0-4,0 рази, призвело до інгібування нагромадження біомаси та окиснення нітрит-йонів бактеріями *Thiocapsa* sp. Ya-2003 та *Lamprocystis* sp. Ya-2003. Внесення у середовище KBr і NaF за концентрації, відмінної від ГДК у 4,0 рази, спричинило зниження біомаси *Thiocapsa* sp. Ya-2003 у 2,3 і 2,1 рази та *Lamprocystis* sp. Ya-2003 у 2,2 і 2,5 рази, відповідно, порівняно з контролем. Встановлено, що на окиснення йонів нітриту пурпуровими сіркобактеріями найбільш негативно броміди та флуориди впливають за концентрації, що перевищує ГДК у 4,0 рази. Окиснення NO<sub>2</sub> бактеріями *Thiocapsa* sp. Ya-2003 знизилось у 1,8 й 2,1 рази, *Lamprocystis* sp. Ya-2003 у 1,9 і 2,2 рази, відповідно, порівняно з контролем. Найінтенсивніше пурпурові бактерії окиснювали нітриту у середовищі без галогенідів. У середовищі із забруднювачами спостерігали зниження вмісту нітратів, які бактерії утворювали внаслідок окиснення нітритів, порівняно з контролем.

Отже, калій бромід та натрій флуорид у середовищі Ван Ніля за концентрацій, що у 0,5-4,0 рази відрізняються від ГДК, негативно впливають на нагромадження біомаси, інгібують окиснення нітрит-йонів і утворення нітрат-йонів бактеріями *Lamprocystis* sp. Ya-2003 та *Thiocapsa* sp. Ya-2003. Тим не менш, досліджені штами бактерій виявилися достатньо стійкими до впливу сполук галогенів, тому вони можуть бути застосовані у технологіях очищення середовищ із комплексним забрудненням.

**Нейлюк М., Мелевич Я., Мороз О., Яворська Г., Гнатуш С.**  
ОКИСНЕННЯ ЙОНІВ НІТРИТУ ФОТОТРОФНИМИ ЗЕЛЕНИМИ  
СІРКОБАКТЕРІЯМИ ЗА ВПЛИВУ СПОЛУК ФЛУОРУ ТА БРОМУ

*Львівський національний університет імені Івана Франка*  
*вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна;*  
*e-mail: martanejluk13@gmail.com*

**Nejluk M., Melevych Y., Moroz O., Yavorska H., Hnatush S.** OXIDATION OF NITRITE IONS BY PHOTOTROPHIC GREEN SULFUR-BACTERIA UNDER THE INFLUENCE OF FLUORINE AND BROMINE COMPOUNDS. Sodium fluoride and potassium bromide at concentrations in Van Niel medium, that are 0.5–4.0 times different from the maximum permissible, inhibit the biomass accumulation and nitrite ions oxidation by *Chlorobium limicola* IMB K-8, but stimulate the synthesis of intracellular carbohydrates.

Фототрофні зелені сіркові бактерії роду *Chlorobium* – це типові представники водних біотопів, які поширені у безкисневих, мало освітлених частинах озер або прибережних осадах (Горішний та ін., 2012). Фототрофні сіркобактерії відіграють важливу роль у відновленні рівноваги хімічних елементів у водоймах за рахунок використання CO<sub>2</sub> як джерела карбону і відновлених сполук сульфуру (сульфідів,

тіосульфатів), нітрогену (нітритів), Fe(II), молекулярного водню або органічних сполук як екзогенних донорів електронів аноксигенного фотосинтезу (Dahl, 2017; Tarabas et al., 2019). У клітинах фотосинтезуювальних зелених сіркобактерій за певних умов культивування нагромаджується глікоген. Механізми регулювання біосинтезу глікогену в клітинах бактерій досліджені недостатньо. Зелені сіркобактерії можуть виявитися перспективним джерелом дешевого органічного карбону, тому дослідження умов нагромадження ними глікогену має важливе теоретичне і практичне значення (Левицька та ін., 2010). Відомо, що забруднювачі неорганічної природи змінюють перебіг біологічних процесів у довкіллі (Тарабас та ін., 2017). Тому метою нашої роботи було дослідити вплив найбільш поширених неорганічних забруднювачів – сполук флуору та бромю, на ріст, окиснення нітритів, нагромадження нітратів та утворення глюкози і глікогену клітинами зелених сіркобактерій *Chlorobium limicola* ІМВ К-8, виділених з озера Яворівське.

Фототрофні сіркобактерії *C. limicola* ІМВК-8 культивували у середовищі Ван Ніля з NaNO<sub>2</sub> (4,2 мМ) та неорганічними забруднювачами за різних концентрацій впродовж 10 діб за анаеробних умов, 25-28 °С та оптимального освітлення (Гудзь та ін., 2014). Густина засіву становила 0,2 г/л. NaF додавали до середовища за гранично допустимої концентрації (ГДК) 0,0789 мМ, KBr – за ГДК 0,0025 мМ та за концентрацій, відмінних від ГДК у 0,5; 2,0; 3,0; 4,0 рази (контроль, середовище без галогенідів). Після 10 діб росту визначали біомасу бактерій турбідиметричним методом, вміст NO<sub>2</sub><sup>-</sup> та NO<sub>3</sub><sup>-</sup> у культуральній рідині – спектрофотометричним методом (Гудзь та ін., 2014). Вміст внутрішньоклітинних глюкози та глікогену визначали у безклітинних екстрактах *C. limicola* ІМВ К-8 ферментативним методом за допомогою аналітичного набору “Діаглюк-2” (Гончар, 1998).

Результати досліджень вказують на те, що натрій флуорид і калій бромід за всіх досліджених концентрацій у середовищі негативно впливають на нагромадження біомаси та окиснення нітритів бактеріями *C. limicola* ІМВ К-8. Встановлено, що NaF та KBr за концентрацій, у 0,5-4,0 рази відмінних від ГДК, пригнічують нагромадження біомаси у 1,2-2,2 та 1,5-2,1 рази, відповідно, порівняно з контролем. За внесення у середовище NaF за концентрацій, які відрізнялися від ГДК у 0,5-4,0 рази, спостерігали інгібування окиснення NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у 1,1-1,7 рази, а вміст NO<sub>3</sub><sup>-</sup> знижувався до 1,7 разів, порівняно з контролем. Внесення у середовище KBr за цих же концентрацій сповільнювало окиснення бактеріями NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у 1,1-1,3 рази, а вміст NO<sub>3</sub><sup>-</sup> за цих умов зменшувався до 1,3 разів, порівняно з контролем. NaF та KBr за усіх концентрацій у середовищі стимулювали нагромадження внутрішньоклітинних вуглеводів. Вміст глікогену та глюкози виявився найвищим у клітинах, вирощених у середовищах зі сполуками флуору та бромю за концентрацій, у 3,0-4,0 рази вищих, ніж ГДК.

**Теклішин Д.<sup>1</sup>, Ханик Ю.<sup>1</sup>, Мельничук М.<sup>1</sup>, Звір Г.<sup>1</sup>, Гринчишин Н.<sup>2</sup>**  
**ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ-ДЕСТРУКТОРІВ**  
**ФЛУОРСИНТЕТИЧНИХ ПЛІВКОУТВОРЮВАЛЬНИХ ПІНОУТВОРЮВАЧІВ ДЛЯ**  
**ГАСІННЯ ПОЖЕЖ.**

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

<sup>2</sup>Львівський державний університет безпеки життєдіяльності  
 вул. Клепарівська 35, м. Львів, 79000, Україна  
 e-mail: dentek19@gmail.com

**Teklishyn D.<sup>1</sup>, Khanyk Yu.<sup>1</sup>, Melnychuk M.<sup>1</sup>, Zvir G.<sup>1</sup>, Grynychyshyn N.<sup>2</sup>**  
**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF BACTERIA-**



DESTRUCTORS OF AQUEOUSFILMFORMINGFOAMFOR FIREFIGHTING. In the work, we used five strains of microorganisms capable to use an aqueous film forming foam for firefighting as a carbon source. It was investigated the ability of bacteria to assimilate some sources of carbon and nitrogen. All strains have catalase and urease activity, some possess amylase, lipase and phosphate mobilizing activity.

Галогеновані полютанти належать до стійких органічних забруднювачів, серед яких особливе місце займають перфлуоркарбонові кислоти, що мають властивості поверхнево-активних речовин (ПАР). Одна з основних сфер їхнього використання – гасіння пожеж, спричинених горінням нафтопродуктів та інших видів легкозаймистих рідин. Дослідження показують, що ці ПАР становлять значну загрозу для довкілля та здоров'я людини через широке поширення, надзвичайну стійкість у довкіллі, тенденції до біоаккумуляції та потенційних токсичних ефектів (España et al., 2015; Tsuda et al., 2016). Висока токсичність і здатність до накопичення флуорвмісних ПАР в об'єктах навколишнього середовища вимагає розробки шляхів мінімізації їх негативного впливу шляхом мікробної деградації. Тому виділення мікроорганізмів, здатних до розкладання протипожежних піноутворювачів на основі флуорорганічних поверхнево-активних речовин, і дослідження їхніх фізіологічних властивостей може мати практичне застосування з метою ремедіації ґрунтів, забруднених протипожежними пінами.

Використовуючи метод нагромаджувальних культур, з ґрунту сірого лісового на середовищі Раймонда (Шарипов, 2015) було виділено п'ять ізолятів бактерій, здатних використовувати плівкоутворювальні піноутворювачі як єдине джерело карбону, та досліджено їхні фізіолого-біохімічні властивості: засвоєння різних джерел карбону, нітрогену; ферментативну активність тощо.

З метою дослідження здатності використовувати вуглеводи та багатоатомні спирти як джерела карбону виділені ізоляти висівали штрихом на агаризоване середовище 5338, у яке додавали відповідну сполуку (глюкозу, арабінозу, фруктозу, рамнозу, рафінозу, целюлозу, сахарозу, інозит, маніт, сорбіт) у концентрації 1%. Склад середовища 5338 (г/л):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 2,64;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2,38;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 4,31;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 1; розчин мікроелементів – 1 мл; вода дистильована – 1 л. Для виявлення здатності бактерій-деструкторів протипожежних флуорсинтетичних плівкоутворювальних піноутворювачів засвоювати неорганічні сполуки нітрогену використовували агаризоване синтетичне середовище, яке містило амонію нітрат (Гудзь, 2012). Здатність до діазотрофії перевіряли посівом ізолятів на агаризоване середовище Ешбі, здатність до фосфатмобілізації – за ростом на середовищі Піковської (Гудзь, 2012). Досліджено також ферментативну активність виділених бактерій (каталазу, амілазу, уреазу, ліпазу, целюлазу) (Гудзь, 2012).

За результатами досліджень встановлено здатність бактерій-деструкторів флуорсинтетичних плівкоутворювальних піноутворювачів використовувати як джерело карбону вуглеводи (глюкозу, мальтозу, арабінозу, рафінозу, целюлозу, галактозу) та багатоатомні спирти – сорбіт, маніт та інозит. Як джерело нітрогену досліджені культури використовують сечовину, нітрати; здатні до фіксування молекулярного нітрогену під час росту на середовищі Ешбі. Усі ізоляти мають каталазу та уреазу активність, деякі володіють амілазою, ліпазою та фосфатмобілізувальною активністю.

**Komplikevych S., Kanetska A., Melnyk V., Maslovska O., Hnatush S.**  
CU<sup>2+</sup> AND CR (VI) INDUCED FREE RADICAL DAMAGES TO CELLS OF  
*RHODOPSEUDOMONAS YAVOROVII* IMB B-7620

*Ivan Franko National University of Lviv*  
*Hrushevskogo str., 4, Lviv, 79005, Ukraine*  
*e-mail: solomiia.komplikevych@lnu.edu.ua*

Among the properties of bacteria of the genus *Rhodopseudomonas*, the presence of flexible metabolic pathways and the ability for anoxygenic photosynthesis are valuable. These microorganisms are producers of antioxidants, pigments, lipids, amino acids, fatty acids, vitamins, coenzyme Q10, and poly-3-hydroxybutyrate, etc. The strain *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620, that was isolated from Yavorivske Lake is an exoelectrogen capable of synthesizing hydrogen and reducing the content of organic compounds during growth in wastewater and is also characterized by resistance to Fe<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cr(VI), Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> in concentrations, exceeding the maximum permissible concentration. Metals are one of the important factors influencing the viability and metabolic activity of microorganisms. One of the key mechanisms of impact of metals with variable valence is the formation of free radicals with subsequent damage to biomolecules. The aim of the work was to characterize changes in the content of lipid peroxidation products (LPO), carbonyl groups of proteins, and the functioning of enzymes of the antioxidant system of bacteria *Rhodopseudomonas yavorovii* IMB B-7620 under the influence of copper (II) chloride and potassium dichromate.

*R. yavorovii* IMV B-7620 bacteria were grown in ATCC №1449 medium (g/l): NH<sub>4</sub>Cl – 0.4, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O – 0.32, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0.6, CaCl<sub>2</sub> – 0.05, sodium citrate – 12 mM. Copper (II) chloride (0.05, 0.1, 0.125, 0.25, 0.5 mM) or potassium dichromate (10, 17.5, 25, 37.5, 45 μM) were added into the medium. Metal salts were not added to the control. *R. yavorovii* IMV B-7620 was cultivated for fourteen days at a temperature of +28±2 °C and illumination of 200 lux. The content of products of LPO, oxidative modification of proteins, and the activity of enzymes of the antioxidant defense system was determined photometrically after 7, 10, and 14 days of cultivation.

It was established that the concentration of copper (II) chloride significantly influenced the content of LPO products and catalase, and superoxide dismutase activity of *R. yavorovii* IMV B-7620. The cumulative impact of the concentration of copper (II) chloride and the duration of cultivation on the content of primary products of LPO and superoxide dismutase, and catalase activity is also significant. Under the influence of copper (II) chloride, the content of LPO products increased, compared to the control during the 7th day of bacterial growth. During further cultivation, high content of lipid hydroperoxides and TBARS was maintained until the 10th day of growth. During the 14th day of cultivation of *R. yavorovii* IMV B-7620, the content of LPO products significantly decreased and did not exceed their content in the control. The content of carbonyl groups in the proteins of *R. yavorovii* IMV B-7620 increased by 1.5–2.3 times, compared to the control, only under the influence of 0.25–0.5 mM copper (II) chloride. The specific catalase activity increased, compared to the control, throughout the duration of bacterial cultivation, while an increase in superoxide dismutase activity was detected during the 7th day of *R. yavorovii* IMV B-7620 growth at all concentrations of copper (II) chloride, and during subsequent cultivation under the influence of 0.05–0.1 mM of this salt. A significant effect of the concentration of potassium dichromate on superoxide dismutase activity, as well as a significant cumulative impact of the concentration of potassium dichromate and the duration of cultivation of *R.*

*yavorovii* IMV B-7620 on the content of secondary products of LPO, carbonyl groups in proteins and superoxide dismutase activity.

**Kulishko N., Komplikevych S., Maslovska O., Hnatush S.**

FREE RADICAL PROCESSES IN *OCHROBACTRUM RHIZOSPHAERAE* IMV B-7956  
CELLS UNDER THE INFLUENCE OF COPPER (II) CHLORIDE

*Ivan Franko National University of Lviv*  
*Hrushevskiyi str., 4, Lviv, 79005, Ukraine*  
*e-mail: natalia.kulishko@gmail.com*

Microbiological research of infiltrates of solid waste landfills has an extremely high potential, since microorganisms are involved in cycles of elements, form its main physical and chemical characteristics, and have developed several adaptations to adverse conditions. For application in bioremediation processes of wastewater of various origins, it is important to use bacterial strains that are isolated from man-made environments and therefore are resistant to the influence of environmental factors, in particular, heavy metal compounds, toxic organic compounds, high concentrations of hydrogen sulfide, sulfates, etc. The strain *Ochrobactrum rhizosphaerae* IMV B-7956 was isolated from the infiltrates of the Lviv solid waste landfill, which is halotolerant, resistant to  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr(VI)}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ , and exhibits amyolytic, lipolytic, lecithinase, glycogen phosphorylase activity. The aim of the work was to investigate physiological and biochemical properties of metal-resistant bacteria *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 under the influence of copper (II) chloride.

Bacteria *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 were incubated for an hour in 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5) with 2; 4; 6; 8; 10 mM copper (II) chloride and then inoculated into the tryptone-soy broth (Merck, USA). Bacteria incubated in a metal-free buffer were used as a control. *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 was cultivated for two days at a temperature of  $+28 \pm 2$  °C. The content of products of lipid peroxidation (LPO), oxidative modification of proteins, and the activity of enzymes of the antioxidant defense system were determined photometrically after 12, 24, and 48 hours of cultivation.

The content of primary products of lipid peroxidation (diene conjugates and lipid hydroperoxides) in bacterial cells increased with increasing the duration of cultivation, while the content of TBA-reactive species decreased during 12-48 hours of culture growth. When copper (II) chloride was added to the incubation mixture, the content of LPO products increased significantly, compared to the control during 12 hours of bacterial growth. The content of LPO products in *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 cells depended little on the metal salt concentration during 12 hours of bacterial growth. However, until 48 hours of bacterial cultivation, the content of LPO products decreased to the control level or was 2-4 times higher than in the control. Both in the control and under the influence of copper (II) chloride, the highest content of carbonyl groups in proteins was after 24 hours of cultivation of *O. rhizosphaerae* IMV B-7956. Under the influence of 4-10 mM copper (II) chloride, the content of carbonyl groups in bacterial proteins increases during 12-24 hours of cultivation. During further cultivation, the content of carbonyl groups in the proteins of *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 does not differ from the control. The superoxide dismutase activity of the cell-free extract of *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 was the highest during 12 hours of growth (940-2800 units of activity  $\text{min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ) and exceeded the activity in the control by 7-18 times. During further cultivation, superoxide dismutase activity was a little different from the control. Catalase activity was high during 12 and 24 hours of growth and increased with increasing concentration of copper (II) chloride in the incubation mixture. During further cultivation, catalase activity was little different from the control.

These changes are accompanied by the active growth of bacteria, so we assume that the bacteria adapt to the influence of copper, or release it from the cells, thereby neutralizing the toxic effect.

Therefore, copper (II) chloride induced free radical processes in *O. rhizosphaerae* IMV B-7956 cells, as evidenced by a significant increase in the content of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins products in the cell-free extract. Bacteria have developed effective mechanisms of adaptation to stressful conditions, in particular, the influence of heavy metals, one of which is catalase and superoxide dismutase activity.

**Pełala-Safińska A.<sup>1</sup>, Buyun L.<sup>2</sup>, Honcharenko V.<sup>3</sup>, Prokopiv A.<sup>3,4</sup>, Tkachenko H.<sup>5</sup>, Kurhaluk N.<sup>5</sup>**

THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LEAF EXTRACT OBTAINED FROM *FICUS ELASTICA* ROXB. EX HORNEM. (MORACEAE) AND ITS CULTIVARS AGAINST *AEROMONASSOBRIA* STRAIN

<sup>1</sup>*Department of Preclinical Sciences and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, University of Life Sciences, Poznań, Poland*

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

<sup>3</sup>*Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine*

<sup>4</sup>*Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv, Lviv, Ukraine*

<sup>5</sup>*Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Poland Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*Ficus elastic* 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 areas 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. It's glabrous coriaceous spirally arranged leaves reach 10-40 cm in length and 5-22 cm in width; they are elliptic to oblong with an 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*, 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).

In the current study, we studied the antimicrobial activity of the ethanolic extracts of *F. elastica* and its cultivars (*F. elastica* 'Rubra', 'Robusta', 'Burgundy', 'Variegata') against *Aeromonas sobria* to evaluate the possible use of this plant in preventing infections caused by this fish pathogen in aquaculture. The current study was conducted as a part of an ongoing project between the Institute of Biology and Earth Sciences (Pomeranian

University in Słupsk, Poland), Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, University of Life Sciences (Poznań, 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 and subtropical plants, cultivated *in vitro*.

The leaves of *F. elastica* and its cultivars (*F. elastica* 'Rubra', 'Robusta', 'Burgundy', 'Variegata') were sampled at National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine (Kyiv, Ukraine), and Botanic Garden of Ivan Franko National University in Lviv (Lviv, Ukraine). The sampled leaves were brought into the laboratory for antimicrobial studies. Freshly sampled leaves were washed, weighed, crushed, and homogenized in 96% ethanol (in the proportion of 1:10, w/w) at room temperature, and centrifuged at 3,000 g for 5 minutes. Supernatants were stored at -25°C in bottles protected with laminated paper until required.

*Aeromonas sobria* (K825) strain, which originated from freshwater fish species such as common carp (*Cyprinus carpio* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), respectively, was isolated in the 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 Polska Sp. z o.o.) and incubated at 27 °C±2 °C for 24 h. Pure colonies were used for biochemical identifications, according to the manufacturer's instructions, except for the temperature of incubation, which was 27 ± 1 °C. The following identification systems were used in the study: API 20E, API 20NE, API 50CH (BioMérieux Polska Sp. z o.o.). Presumptive *Aeromonas* isolates were further identified to the species level by restriction analysis of 16S rDNA genes amplified by polymerase chain reactions (PCR) (Kozłowska, 2007). Antimicrobial susceptibility of the tested *Aeromonas sobria* 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. Seven drugs representing different antimicrobial classes as quinolones, tetracyclines, sulphonamides, and phenicolswere used. After incubation, the inhibition zones were measured. Interpretation criteria have been adopted from that available for *Aeromonas salmonicida* (CLSI, 2006).

The sensitivity of *Aeromonas sobria* to extracts was determined by the Kirby–Bauer technique, by the guidelines of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) with our modifications. A suspension of each bacterial species was inoculated on Mueller-Hinton agar. Five wells per Petri dish with a diameter of 6 mm were made in the medium, and plant extracts were added to them. Plates were incubated at 28 ± 2 °C for 24 h and the growth inhibition zones for each well were measured. The interpretation criteria for the phytochemicals tested were that a zone ≥ 15 mm was termed susceptible (S), one of 10–15 mm intermediate (I), and a ≤ 10 mm zone was indicative of a resistant microorganism (R) (Okoth et al., 2013). Ethanol at 96% (POCH, Poland) strength as used to prepare the extracts was used as the negative control. Statistical analysis. Obtained data were analyzed statistically by employing the mean ± standard error of the mean (S.E.M.). All variables were randomized according to the phytochemical activity of the tested ethanolic extracts.

Our results of the antimicrobial screening revealed, that *F. elastica* and its cultivars possessed mild antibacterial properties against the *A. sobria* strain. The ethanolic extract obtained from leaves of *F. elastica* 'Variegata' exhibited the maximum antimicrobial activity against *A. sobria* (the mean of inhibition zone diameters was 14.19 ± 0.73 mm). *A. sobria* strain was susceptible to the *F. elastica* (12.38 ± 0.82 mm) and 'Robusta' (11.75 ± 0.53 mm).

*A. sobria* strain was the most resistant to *F. elastica* 'Rubra' ( $9.75 \pm 0.41$  mm) and *F. elastica* 'Burgundy' ( $9.63 \pm 0.38$  mm) leaf extracts. Moreover, in our previous study (Opryshko et al., 2020), we evaluated the *in vitro* 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 as a cell model after incubation with plant extracts in two doses (5 mg/mL and 0.5 mg/mL). 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 in 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. 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 in TBARS level (by 29.2%  $p < 0.05$ ) compared to untreated controls. 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% ( $p < 0.05$ ) (Opryshko et al., 2020).

Thus, *F. elastica* and its cultivars (*F. elastica* 'Rubra', 'Robusta', 'Burgundy', 'Variegata') disclosed mild bioactivity, and this plant can be regarded as a potential source of antibacterial agents. The results of the current study provide a new perspective for the use of various species belonging to the *Ficus* genus as medicinal plants to improve the antibacterial responses in salmonid aquaculture.

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

**Vlasiuk Y., Yavorska H., Fedorovych D.**

CAROTENOIDS PRODUCTION OF *XANTHOPHYLLOMYCES DENDRORHOUS*  
(*PHAFFIA RHODOZYMA*) MUTANTS GROWN ON THE HYDROLYZATE OF  
COOKIE WASTE

*Ivan Franko National University of Lviv  
Hrushevskogo St. 4, 79005, Lviv, Ukraine.  
e-mail: yana.vlasiuk2002@gmail.com*

Carotenoids are fat-soluble organic compounds that chemically belong to the terpene class. Astaxanthin is a xanthophyll pigment with commercial application in the aquaculture as an integral component of salmon feed and increasingly also in the pharmaceutical, cosmetic and food industry because of its high antioxidant potential and health-promoting properties. It serves as a safeguard against oxidative damage by various mechanisms, like quenching of singlet oxygen; scavenging of radicals to prevent chain reactions; preservation of membrane structure by inhibiting lipid peroxidation; enhancement of immune system function and regulation of gene expression. Carotenoids are an important component of the non-enzymatic system of antioxidant protection. The carotenoid astaxanthin is an antioxidant that is 10-12 times more effective than  $\beta$ -carotene and 100-500 times more effective than vitamin E. One of the sources of astaxanthin is the red yeast *Xanthophylomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*), which produces neurosporine (0.01%), lycopene (0.01%),  $\gamma$ -carotene (0.01%),  $\beta$ -carotene (2-2.5%), echinenone (2-4%), hydroxyiequinonene

(3-4%), phoenicoxanthin (5-7%) and astaxanthin (83-87%). Wild strains are not used in biotechnology because they accumulate low concentrations of carotenoids in cells. Pigment production by *P. rhodozyma* can be improved by mutagenesis.

The aim of this work was to obtain mutants that would be able to synthesize astaxanthin on the hydrolyzate of cookies, which is much cheaper than synthetic medium containing glucose as carbon source. The hydrolyzate was obtained using the enzymes alpha-amylase and glucoamylase, as well as components such as: cookie waste, trace elements, biotin and salts  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  and brought to 4 degrees Balling.

Ultraviolet radiation was used as a mutagenic factor. Strain 9.1, taken from a synthetic medium, was irradiated with a bactericidal lamp for 25 and 50 seconds. After irradiation, the cells were seeded on Petri dishes with agar hydrolizate of cookies medium and cultured for 4 days at 25 °C. The mutants' ability to accumulate carotenoids increased by 6-10%.

## ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE

**Введенський Д., Волкова Н., Степанюк Л., Сокіл Л., Чернишенко Л., Гольцев А.**

**РОЛЬ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ  
СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН В ТЕРАПІЇ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ**

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків*

*Україна 61016, Харків, вул. Переяславська 23.*

*e-mail: volkovana781@gmail.com*

**Vvedenskyi D., Volkova N., Stepaniuk L., Sokil L., Chernyshenko L.<sup>1</sup>, Goltsev A.<sup>1</sup>** ROLE OF CRYOPRESERVED MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN THERAPY OF ADJUVANT ARTHRITIS. A comparative assessment of the effect of intravenous administration of CrMMSCs from adipose tissue and dexamethasone on the restoration of damaged cartilage tissue in animals with adjuvant arthritis was carried out. The analysis of the obtained results showed that intravenous administration of CrMMSCs from adipose tissue to animals with AA compared to dexamethasone led to active processes of stimulation of reparative and regenerative processes in articular cartilage.

Ревматоїдний артрит (РА) характеризується аутоіммунним хронічним запальним синовітом з прогресуючою деструкцією суглобів і широким спектром системних проявів. Факторами, що обмежують імуносупресивну терапію РА, є резистентність до препаратів, яка часто виникає при їх тривалому застосуванні. У зв'язку з цим не можна не відзначити багатопрофільність імюнокорегуючої активності клітинної терапії. Одним із перспективних терапевтичних підходів є застосування кріоконсервованих мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (КрММСК).

Мета дослідження – проведення порівняльної оцінки впливу внутрішньовенного введення КрММСК жирової тканини та дексаметазону на відновлення ушкодженої хрящової тканини у тварин з ад'ювантним артритом.

Модель АА у самців щурів індукували субплантарним запровадженням повного ад'юванта Фрейнда. На 7 день моделювання тваринам вводили внутрішньовенно: фізіологічний розчин (контрольна група); дексаметазон (дослідна група 1); КрММСК із жирової тканини (дослідна група 2). На 21 добу для гістологічного дослідження видаляли надп'ятково-гомілкові суглоби щурів дослідних груп. Гістологічні зрізи суглобів забарвлювали гематоксиліном Вейгерта та еозином. Світлову мікроскопію проводили за допомогою світлового мікроскопа ZEISS Primo Star (Carl Zeiss, Germany). Результати були оброблені за допомогою аналізу Крускала-Уолліса та методу Ньюмена-Кеулса для численних порівнянь.

За результатами гістологічного дослідження встановлено, що у суглобовому хрящі тварин контрольної групи на 21-у добу виявлено ознаки розвитку виражених артрозних порушень, а саме: набряк та запальна інфільтрація в капсулі, дистрофія хондроцитів, некроз та відшарування контактних поверхонь хряща, пусті лакуни (3-4 ступень за шкалою OARSI). У тварин дослідної групи 1 спостерігали помірний набряк м'яких тканин навколо суглоба, ущільнення капсули, звуження суглобової щілини та дегенеративні зміни хряща суглобових поверхонь. У тварин дослідної групи 2 в капсулі суглобу визначали незначні ознаки набряку та розшарування пучків



колагенових волокон на невеликих ділянках, осередки проліферації фібробластів, що відображує перебіг регенераторних процесів. Зокрема, в групі 2 відмічене більш виражене зниження явищ запалення в капсулі суглоба (2-3 ступень за шкалою OARSI).

Таким чином, отримані результати відновлювальної дії КрММСК на хрящову тканину дозволяють зробити висновок про можливість використання для терапії РА досліджуваних клітинних культур. Однак відкритим залишається питання про віддалені ефекти клітинної терапії, зокрема про тривале гальмування дегенеративно-дистрофічного процесу та можливу необхідність повторного використання клітин.

**Войтик А., Манько Б., Іккерт О.**

**ВПЛИВ ВИСОКОГО ВМІСТУ ЖИРІВ І ВУГЛЕВОДІВ У РАЦІОНІ НА  
ОКИСНЕННЯ СУБСТРАТІВ ЦТК У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: andriyvoytyk@gmail.com*

**Voityk A., Manko B., Ikkert O.** THE EFFECT OF HIGH FAT AND CARBOHYDRATE CONTENT IN THE DIET ON THE OXIDATION OF TAC SUBSTRATES IN RAT LIVER. The effect of high levels of fats and carbohydrates in the diet on the oxidation of TAC substrates in the liver of rats subjected to appropriate diets was studied. In animals of the experimental group for the oxidation of succinate and 3-hydroxybutyrate was a statistically significant decrease in the rate of V2, and in the oxidation of pyruvate - a tendency to decrease. There was also a tendency to decrease the rates of V3, V4 and VFCCP for the oxidation of succinate and pyruvate.

Однією зі зростаючих проблем у розвинених країнах є реакція печінки на надмірне харчування (Trefts et al., 2017). Всесвітня організація охорони здоров'я описує ожиріння як глобальну епідемію з приблизно 500 мільйонами дорослих з ожирінням і ще з 1,5 мільярдами людей із зайвою вагою або ожирінням у всьому світі (Milić et al., 2014). Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), що пов'язана з ожирінням та може бути викликана високожировою та високовуглеводною дієтою, є важливою медичною проблемою, яка зачіпає до 20% західного населення (Mantena et al., 2009). Дані вказують на те, що мітохондріальна дисфункція відіграє важливу роль у ініціації неалкогольної жирової хвороби печінки та прогресуванні цього стану до більш серйозного – неалкогольного стеатогепатиту (Mantena et al., 2009).

Метою нашого дослідження було з'ясувати зміни швидкості дихання клітин печінки щурів на комбінованій високожировій/високовуглеводній дієті при окисненні субстратів циклу трикарбонових кислот.

Досліди проводили на білих нелінійних самцях щурів масою 200–300 г. Тварин утримували у віварії за постійної температури на двох раціонах: основному та високожировому високовуглеводному (вміст жирів 40%, вміст вуглеводів 50%). Кожен зі щурів перебував на відповідній дієті по 7 тижнів. Для виділення мітохондрій печінки щурів ми використовували метод Frezza та співавторів. В отриманій суспензії міряли значення A280 проти дистилату у програмі Formula Methods за допомогою спектрофотометра DeNovix DS-11+. Для отримання значень вмісту білка будували калібрувальну криву, для побудови якої використовували бичачий сироватковий альбумін. Досліджували швидкість дихання мітохондрій клітин печінки щурів за допомогою полярографа RC650 6-cell respirometer (Strathkelvin Instruments) при 26 °C

з додаванням сукцинату, глутамату, 3-гідроксибутирату та пірувату як субстратів. Розрахунки і побудова графіків проводилась з використанням Microsoft Office. Статистичну обробку проводили за допомогою t-тесту Стьюдента. Достовірною вважали різницю між групами даних з  $P \geq 0,05$ .

Визначення вмісту мітохондріального білка шляхом вимірювання значення поглинання при довжині хвилі 280 нм та калібруванням відносно БСА дає стабільні результати в межах протоколу, і є легшим порівняно з методом Лоурі. Реєструвалась статистично однакова кількість мітохондріального білка, що відповідала міжнародним стандартам (близько 1 мг білка на комірку респірометра).

За нормального раціону найвищі швидкості поглинання кисню мітохондріями печінки контрольних щурів спостерігалися при окисненні сукцинату. У щурів на високожировій високовуглеводній дієті за окиснення сукцинату та 3-гідроксибутирату спостерігалось статистично достовірне ( $P < 0,05$ ) зменшення базальної швидкості у стані V2, а при окисненні пірувату – тенденція до такого зниження. У щурів на високожировій високовуглеводній дієті спостерігалася тенденція до зниження швидкостей V3, V4 та VFCCP за окиснення сукцинату та пірувату порівняно з контрольною групою.

#### Долженко Ю.

#### ПОРІВНЯННЯ КОЕФІЦІЄНТА СТАТЕВОГО ДИМОРФІЗМУ ЗІ СТАНДАРТНИМИ ПОКАЗНИКАМИ В КРАНІОЛОГІЧНІЙ СЕРІЇ XVII–XIX СТ. З ЧЕРНІГОВО-СІВЕРЩИНИ

*Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя  
вул. Графська, 2, Ніжин, Чернігівська область, 16600, Україна  
e-mail: yuriy\_dolzhenko@ukr.net*

**Dolzhenko Yu.** COMPARISON OF THE COEFFICIENT OF SEXUAL DIMORPHISM WITH STANDARD INDICATORS IN THE CRANIOLOGICAL SERIES OF THE 17<sup>th</sup> – 19<sup>th</sup> CENT. FROM CHERNIHIV-SIVERSK REGION. The analysis of the coefficient of sexual dimorphism helps to establish the direction of discrepancies between the craniological features of the male and female series. The purpose of the study is to compare the coefficient of sexual dimorphism with standard indicators in the craniological series of the 17<sup>th</sup> –19<sup>th</sup> cent. from Chernihiv-Siversk region. The differences found between the male and female series are insignificant, but may indicate the heterogeneity of the anthropological composition of the region.

Аналіз коефіцієнта статевого диморфізму (КСД) допомагає встановити напрямок розбіжностей між краніологічними ознаками чоловічої та жіночої серій. Мета дослідження – порівняти порівняння коефіцієнт статевого диморфізму зі стандартними показниками в краніологічній серії XVII–XIX ст. з Чернігово-Сіверщини.

Під час розрахунку КСД важливо, скільки чоловіків і жінок було залучено (Евтеев, 2008). В нашому випадку за різними ознаками залучено від 45 до 106 чоловічих і жіночих черепів, які вимірювалися за стандартною краніологічною методикою (Martin, 1928, Алексеев & Дебец, 1964). За А. Евтеевим вираховано КСД (Евтеев, 2008).

Щоб виявити напрями можливих відмінностей між чоловічими та жіночими черепами Чернігово-Сіверщини, вираховано КСД за основними ознаками мозкового відділу. Середній стандартний КСД 24 лінійних розмірів становить 1,054 (Алексеев & Дебец, 1964, Табл. 12–13, с. 123–125). У серії з Чернігово-Сіверщини він дорівнює 1,046. При розгляді 25 лінійних розмірів, лише за 11 ознаками (44,0%) коефіцієнти вкладаються в стандартні норми; вихід за верхні межі відзначено в сімох випадках (28,0%), за нижні – теж у семи (28,0%). Отже, в 44,0% випадків емпіричні КСД не вкладаються в межі середніх даних. Різниця між чоловічою й жіночою групою простежується в пропорціях мозкового відділу черепа та обличчя. Жіночі черепи мають більшу вушну висоту, меншу ширину обличчя, вищі орбіти.

Обґрунтовані висновки про різні морфологічні варіанти чоловіків і жінок можна зробити, коли КСД краніологічних ознак помітно відрізняються від стандартних величин, а найінформативнішими є поздовжній і висотний діаметр черепної коробки, довжина основи черепа, довжина основи обличчя, висота орбіти, висота носа, ширина носа. В однорідних серіях ці ознаки (особливо перші 4) мають дуже стабільний рівень між статевих розбіжностей. Якщо КСД 2 чи більше з цих ознак виходить за межі середніх стандартних значень, можна впевнено припускати різне походження чоловіків і жінок у вибірці (Евтеєв, 2008). В нашому випадку з 7 інформативних ознак за межі середніх значень виходять висотний діаметр черепної коробки, довжина основи обличчя й висота носа.

Отже, виявлені відмінності між чоловічою та жіночою серіями незначні, але можуть свідчити про неоднорідність антропологічного складу похованих на досліджених цвинтарях Чернігово-Сіверщини XVII–XIX ст.

**Кісєльова Г., Дубрава Т., Ямпольська К., Бабенко Н., Гаєвська Ю., Бондарович М., Останков М., Гольцев А.**

**РОЛЬ БІЛКІВ ТЕПЛОВОГО ШОКУ У РЕАЛІЗАЦІЇ ТОЛЕРОГЕННОЇ АКТИВНОСТІ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН ПІСЛЯ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ**

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,*

*вул. Переяславська, 23., м. Харків, 61015, Україн.*

*Відділ кріонатопфізіології і імунології*

*e-mail:kisilevadoc@gmail.com*

**Kisielova H., Dubrava T., Yampolska K., Babenko N., Gaevska Yu., Bondarovich M., Ostankov M., Goltsev A. THE ROLE OF HEAT SHOCK PROTEINS IN THE IMPLEMENTATION OF TOLEROGENIC ACTIVITY OF DENDRITIC CELLS AFTER CRYOPRESERVATION.** A comparative assessment of the effect of different cryopreservation conditions on the expression level of heat shock proteins hsp-70 in dendritic cells (DCs) of the bone marrow was carried out. It has demonstrated the ability of cryopreservation to act as a "conductor" that regulates the level of hsp-70 expression in DCs and causes an increase in the level of their tolerogenic potential, increasing the effectiveness of use in the adoptive therapy of autoimmune diseases.

Відомо, що при різних умовах кріоконсервування в різний спосіб змінюються як структурні характеристики, так і функціональний потенціал клітин і тканин, що може впливати на ефективність їх застосування в терапевтичних цілях (Goltsev, 2007). Так, від умов кріоконсервування залежить зміна рецепторного репертуару дендритних клітин (ДК), які формуються *in vitro* з мононуклеарів (МНК) кісткового мозку (Гольцев, 2021). Особлива увага в зміні функціонального стану клітин після кріоконсервування звертається на білки теплового шоку, зокрема сімейства hsp70, яким відводиться роль активаторів протизапального процесу (Borges, 2012). Припускають, що механізм імуносупресивної дії hsp-70 реалізуються шляхом модуляції фенотипу і функції ДК, які придбають толерогенну активність, включаючи продукцію IL-10.

Мета дослідження – провести порівняльну оцінку впливу різних умов кріоконсервування на рівень експресії hsp-70 у ДК і особливо стіреалізації ними толерогенної активності при розвитку аутоімунних захворювань.

Експерименти проведено на СВА/Н-мишах. Проаналізовано два режими кріоконсервування МНК: 1° хвдо – 80° (P1); 1° хвдо – 40° (P2) з наступним у кожному випадку зануренням у рідкий азот (-196 °C) під захистом 10% ДМСО за їх схоронністю, метаболічною активністю (Mossman T. 1983), вмістом hsp70. ДК

отримували в культурі з кріоконсервованих за різними режимами МНК (кріоP1 МНК, кріоP2 МНК); оцінку фенотипічних ознак визначали на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» з використанням моноклональних антимишачих антитіл (FITC-мічених): CD11b, CD14, CD83, CD80, CD86, hsp70; ад’ювантний артрит (АА) індукували згідно (Міщенко, 2001); вміст ІЛ-10 в сироватці крові тварин з АА після введення ДК - за допомогою набору Cytometric Bead Array Th1/Th2/Th17 (mouse) Kit IL-10 set («BD Biosciences», США); атестацію толерогенних властивостей кріоконсервованих ДК - за здатністю до індукції Т-регуляторних клітин (FOXP3<sup>+</sup>) в селезінці мишей з АА, а також активації компонентів протизапального каскаду.

Визначено, що режим кріоконсервування P2, забезпечував максимальні показники схоронності, метаболічної активності та вмісту в них hsp70. Атестація функціонального потенціалу ДК з кріоP2 МНК продемонструвала більш високу їх толерогенну активність на відміну від нативних і отриманих з кріоP1 МНК. Максимальне збільшення вмісту hsp70 при P2 контролювало зі збільшенням формування Т-регуляторних клітин, продукцією протизапального цитокіну ІЛ-10 і більш виразною нормалізацією клінічних ознак АА.

Отримані результати демонструють здатність кріоконсервування виступати в ролі «диригента», що регулює рівень експресії hsp-70 в ДК і викликає підвищення рівня їх толерогенного потенціалу, підвищуючи ефективність застосування в адаптивній терапії аутоімунних захворювань.

### **Котик Б., Іскра Р.**

#### **КОМПЛЕКСНИЙ ВПЛИВ ВІТАМІНУ Е ТА ЕТИЛТІОСУЛЬФАНІЛАТУ НА ВМІСТ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕЇНОВОГО ОБМІНУ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ Cr (VI)**

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

**Kotyk B., Iskra R. THE COMPLEX INFLUENCE OF VITAMIN E AND ETHYLTHIOSULFANYLATE ON THE CONTENT OF SOME INDICATORS OF PROTEIN METABOLISM IN BLOOD OF RATS UNDER CONDITIONS OF Cr (VI) INTOXICATION.** Protein metabolism regulates the content of structural and functional proteins in biological tissues. Under the conditions of intoxication, the processes of protein breakdown are significantly enhanced (Liu, 2002). Cr (VI) compounds are one of the most common pollutants in aquatic and terrestrial ecosystems, which are characterized by high toxicity and pro-oxidant properties. Cr (VI) intoxication disrupts the balance between protein anabolism and catabolism, leads to the accumulation of end products of protein breakdown in the blood (Suljevic, 2021). Ethylthiosulfanylate and vitamin E are antioxidants, which help to reduce the intensity of Cr (VI)-induced oxidative stress (Kotyk, 2022). Therefore, the aim of our study was investigate the influence of ethylthiosulfanylate and vitamin E on the state of protein metabolism indicators in blood of rats under conditions of Cr (VI) intoxication.

Дослідження проводили на самцях-аналогах лабораторних щурів, розділених на 8 груп по 5 тварин у кожній. Тваринам I групи (інтактний контроль) внутрішньоочередово щоденно вводили 150 мкл фізрозчину протягом 7 діб. Тваринам III та IV груп в-о щоденно вводили K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, розчинений у 150 мкл ф-ну, у перерахунку 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7 діб (III група) та 14 діб (IV група). Тваринам II групи внутрішньошлунково (в-ш) щоденно вводили 1 мл олії протягом 14 діб, після цього в-о щоденно вводили 150 мкл ф-ну

протягом 7 діб. Тваринам V групи в-ш щоденно вводили 1 мл олійного розчину вітаміну E (віт E) [20 мг/кг маси тіла] протягом 14 діб після цього в-о щоденно вводили 150 мкл ф-ну протягом 7 діб. Тваринам VI, VII, VIII груп в-ш щоденно вводили 1 мл олійного розчину віт E [20 мг/кг] та етилтіосульфанілату (ЕТС) [100 мг/кг] протягом 14 діб після цього в-о щоденно вводили 150 мкл ф-ну протягом 7 діб (VI група) або  $K_2Cr_2O_7$  протягом 7 (VII група) та 14 діб (VIII група). Матеріалом для досліджень слугувала кров щурів, у якій визначали вміст загального протеїну, креатиніну, сечовини. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL, використовуючи метод ANOVA.

Концентрація креатиніну та сечовини у плазмі крові тварин III групи (Cr (VI) 7 діб) вірогідно підвищувалася на 79% та 50% відповідно у порівнянні з I групою (контролем). Рівень загального протеїну знижувався, а вміст креатиніну та сечовини достовірно підвищувався у крові тварин IV групи (Cr (VI) 14 діб) на 28%, 144% та 101% відповідно щодо показників контролю. Концентрація креатиніну та сечовини у плазмі крові щурів VIII групи (віт. E +ЕТС + Cr (VI) 14 діб) також вірогідно підвищувалася на 98% та 74% відповідно порівняно з II групою.

Проте, вміст креатиніну та сечовини у плазмі крові тварин VIII групи (98% та 74%) у порівнянні з II групою, була на 46% та 27% нижчою, ніж відсоткове підвищення концентрації креатиніну та сечовини у крові щурів IV групи (144% та 101%) порівняно з I групою.

Отже, токсичний вплив Cr (VI) спричиняв дисбаланс показників протеїнового обміну за рахунок накопичення вмісту креатиніну та сечовини у плазмі крові щурів за обох періодів інтоксикації. Також 14-ти добовий ефекти Cr (VI) сприяв зниженню концентрації протеїну у крові тварин. У своє чергу, попередня комплексна дія вітаміну E та етилтіосульфанілату знижує інтенсивність 14-ти добового Cr (VI)-індукованого накопичення креатиніну та сечовини у крові лабораторних тварин.

#### **Передерій Д.**

#### **ЗМІНИ АНТИОКСИДАНТНИХ ПОКАЗНИКІВ У ГОМОГЕНАТАХ ПЕЧІНКИ КУРЕЙ ЗА УМОВ ТЕПЛООВОГО СТРЕСУ**

*Інститут біології тварин НААН  
вул. В.Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна  
e-mail: peredina0310@gmail.com*

**Perederiy D.** CHANGES IN ANTIOXIDANT INDICATION IN CHICKEN LIVER HOMOGENATS UNDER CONDITIONS OF HEAT STRESS. In recent years, the impact of climate change has become a major challenge in many areas of human life, including agriculture. Heat stress has become a major problem because, as one of the factors causing oxidative stress, it also stimulates mitochondrial oxidative stress and cellular dysfunction, leading to cell damage and apoptosis. Levels of activated oxygen, as they occur in oxidative systems, constantly cause oxidative damage to cells, which without complex antioxidant defence mechanisms will quickly lead to cell death. The aim of the study was to determine the change in the activity of antioxidant enzymes in chicken liver homogenates under heat stress. The obtained results indicate that heat stress affects the occurrence of oxidative stress, as a result of which enzymes of the antioxidant system are activated, which maintain the optimal level of redox processes in the cells of the animal body.

Останніми роками у світі вплив кліматичних змін став великим викликом у багатьох сферах людської життєдіяльності, у тому числі й у сільському господарстві. Тепловий стрес став великою проблемою, адже він, як один із факторів спричинення

окисативного стресу, також стимулює мітохондріальний окисативний стрес і клітинну дисфункцію, що призводить до пошкодження клітин і їх апоптозу. Рівні активованого кисню, оскільки вони виникають в окислювальних системах, постійно викликають окисне пошкодження клітин, яке без складних антиоксидантних захисних механізмів швидко призведе до загибелі клітин.

Антиоксидантна система захисту організму (АОСЗО) тварин контролює і гальмує всі етапи реакцій утворення вільних радикалів, починаючи від їх ініціації та закінчуючи утворенням гідроперекисів та малонового діальдегіду. Її основним завданням є зменшення кількості вільних радикалів до мінімально можливого рівня. У захисті організму від окисативного стресу приймають участь такі АО ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), пероксидаза, каталаза (КАТ), глутатіонпероксидаза (ГП), глутатіонредуктаза (ГР) тощо. Стан антиоксидантної системи у тварин і птахів впливає на їх ріст, резистентність, продуктивність та якість продукції. У клітинах печінки можуть відбуватися зміни активності деяких АО ферментів, в залежності від тривалості стресу та рівня температури.

Метою роботи було встановити зміну активності антиоксидантних ферментів у гомогенатах печінки курей при тепловому стресі.

Дослід було проведено в умовах віварію Інституту біології тварин НААН. на 60 курях породи Білий Легорн. Дослід відбувся у 2 етапи: на першому – птицю утримували за температури повітря 20 °С протягом 1 тижня, а на другому – були створені умови теплового стресу шляхом підвищення температури утримання до 35 °С, також протягом тижня.

В результаті дослідження встановлено, що активність СОД статистичним змінам не піддалась, КАТ– зросла на 6%, а ГП – підвищилась на 18%, активність же ГР знизилась на 30%.

Отримані результати свідчать про те, що ТС впливає на виникнення окисативного стресу, в результаті чого активуються ферменти АОСЗО, які, в свою чергу, підтримують оптимальний рівень окисно–відновних процесів у клітинах організму тварин.

**Buyun L.<sup>1</sup>, Ivanova Y.<sup>2</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Kovalska L.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>**  
**IN VITRO EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN THE MUSCLE TISSUE OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM) TREATED BY EXTRACT DERIVED FROM LEAVES OF ORCHID *COELOGYNE ROCHUSSENII* DE VRIESE**

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

<sup>2</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

The family Orchidaceae is not only one of the most numerous, ecologically, and morphologically diverse families of flowering plants, but also one of the most endangered plant taxa (Zhang et al., 2015). *Coelogyne rochussenii* is a medium-sized, hot-to-cool growing epiphyte and occasional lithophyte. It is found in Malaysia, Borneo, Java, and Sumatra and east to the Philippines in lowlands often on trees overhanging rivers at elevations up to 1500 meters. *C. rochussenii* has cylindric, narrow, strongly furrowed pseudobulb carrying 2, oblanceolate to obovate, rounded and slightly acuminate, gradually narrowing below into the 2 [5 cm] long, pendant, racemose inflorescence arising on a

mature pseudobulb with brown basal bracts (<https://www.orchids.org/>). Long pendulous spikes carry 35 to 50 green to yellow flowers with a white lip that has brown and yellow markings on it.

Most plants are toxic at high doses and used without any standard safety and toxicological trials although the common assumption is that these products are non-toxic. Plants have evolved to synthesize a variety of noxious compounds to cope with unfavorable circumstances, among which a large group of toxic phytocomponents (e.g., proteins) play a critical role in plant defense against predators and microbes (Dang and Van Damme, 2015). Therefore, it is important to preliminary evaluate the toxicity of plant extracts and toxicological studies should be done on herbal drugs (Welch et al., 2014). The toxicological study is essential to determine the dosage of the plant extracts which will not be lethal to the body when administered (Chitemerere and Mukanganyama, 2014). The current study was conducted to investigate the biomarkers of oxidative stress [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as biomarkers of lipid peroxidation, aldehydic and ketonic derivatives of oxidative modification of proteins (OMP), total antioxidant capacity TAC] in the muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) as the experimental model after *in vitro* treatment with an extract derived from leaves of *C. rochussenii* for determination and exemplify their further potential development and use as a drug against various diseases in aquaculture, medicine, and veterinary. Our current scientific project undertaken in the frame of the cooperation program between the Institute of Biology and Earth Sciences (Pomeranian University in Słupsk, Poland) and M.M. Gryshko National Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, directed to assessment of medicinal properties of tropical plants has encompassed some tropical mega-diverse genera, including representatives of Orchidaceae family.

The leaves of *C. rochussenii* plants, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine. Since 1999, the whole collection of tropical and subtropical plants (including orchids) has had the status of a National Heritage Collection of Ukraine. Besides that, the NBG collection of tropical orchids was registered at the Administrative Organ of CITES in Ukraine (Ministry of Environment, registration No. 6939/19/1-10 of 23 June 2004). Freshly sampled leaves of *C. rochussenii* were washed, weighed, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in the ratio of 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -25 °C until use.

Clinically healthy rainbow trout with a mean body mass of 80-120 g were used in the experiments. The muscle tissue was sampled after the decapitation of the fish. Then samples were homogenized in ice-cold buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.2) using a Teflon homogenizer immersed in an ice water bath. Homogenates were centrifuged at 3,000 rpm for 15 min at 4 °C. After centrifugation, the supernatant was collected and frozen at -25 °C until analyzed. All enzymatic assays were carried out at  $22 \pm 0.5$  °C using a Specol 11 spectrophotometer (Carl Zeiss Jena, Germany) in duplicate. The reactions were started by adding the tissue supernatant. The supernatant of the muscle tissue was used to incubate with an extract derived from leaves of *C. rochussenii* (at a final concentration of 5 mg/mL) at room temperature. The control untreated group (muscle tissue) was incubated with 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2). The incubation time was 2 hours. Oxidative stress biomarkers were studied in the incubated homogenate (untreated samples and in the samples with extracts).

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) by Kamyshnikov (2004). To evaluate the

protective effects of the extract obtained from leaves of *C. rochussenii* against free radical-induced protein damage in the muscle tissue of rainbow trout, a content of carbonyl derivatives of protein oxidative modification (OMP) assay based on the spectrophotometric measurement of aldehydic and ketonic derivatives in the muscle tissue 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 TBARS level after Tween-80 oxidation. This level was determined spectrophotometrically at 532 nm by Galaktionova and co-workers (1998). Sample inhibits the Fe<sup>2+</sup>/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 (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 13.3 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Leaf extract incubated with trout muscles caused a non-considerable increase of TBARS level ( $68.69 \pm 9.02$  nmol·mg<sup>-1</sup> protein) (by 21.9%,  $p > 0.05$ ) compared to the untreated samples ( $56.33 \pm 6.41$  nmol·mg<sup>-1</sup> protein). Interestingly, the increase of the lipid peroxidation biomarker resulted in statistically non-significant TAC enhancement by 13% ( $p > 0.05$ ). On the other hand, leaf extract caused a statistically non-significant reduction in ketonic derivatives of oxidatively modified proteins by 4% ( $p > 0.05$ ). The level of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins was similar to untreated samples ( $13.63 \pm 1.46$  nmol·mg<sup>-1</sup> protein vs.  $14.16 \pm 1.02$  nmol·mg<sup>-1</sup> protein).

In the current work, the antioxidant activities of leaf extract derived from *C. rochussenii* were tested using the muscle tissue of rainbow trout as an experimental model. The extract caused a non-significant increase in TBARS level and TAC level compared to the untreated samples. The level of aldehydic and ketonic derivatives of oxidative modification of proteins was non-altered.

Many other studies revealed the antioxidant potential of plants belonging to the Orchidaceae family. Kumar and co-workers (2021) assessed the antidiabetic, and antioxidant potential of *Rhynchostylis retusa* (L.) Blume and *Euphorbia nerifolia* L., well known for traditional ethnomedicinal uses in North-east India. Results revealed the significant inhibition of  $\alpha$ -amylase activity and retardation in glucose diffusion with *E. nerifolia* and *R. retusa* extract in a dose-dependent manner, depending on the extraction solvent. In addition, GC–MS analysis suggests the presence of diverse phytochemical entities with known anti-inflammatory, and antioxidant properties, possibly implicated for use in diabetic conditions (Kumar et al., 2021). Paudel and co-workers (2019) have assessed of antioxidant and cytotoxic activities of extracts of *Dendrobium crepidatum* Lindl. & Paxton. It concluded that the extracts have many bioactive compounds such as tetracosane, triacontane, tetradecanoic acid, hexadecanoic acid, and phenol derivatives, leading to antioxidant and cytotoxic activities (Paudel et al., 2019).

Therefore, the extract derived from leaves of *C. rochussenii* caused a non-significant increase in TBARS level with a simultaneous increase in TAC level compared to the untreated samples. The level of aldehydic and ketonic derivatives of oxidative modification



of proteins was non-altered. Further investigations need to be carried out to isolate and identify the antioxidant compounds present in the plant extracts.

*The authors gratefully acknowledged The Visegrad Fund for providing facilities for the study.*

**Buyun L.<sup>1</sup>, Ivanova Y.<sup>2</sup>, Kovalska L.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>**  
**BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN THE EQUINE BLOOD AFTER *IN VITRO***  
**TREATMENT WITH EXTRACTS OBTAINED FROM VARIOUS PARTS OF**  
***COELOGYNE HUETTNERIANA* RCHB.F. (*ORCHIDACEAE*) PLANTS**

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

<sup>2</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*  
*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*Coelogyne* genus (Orchidaceae) belongs to the group of orchids, possessing medical properties (Szlachetko, 2001; Pérez Gutiérrez, 2010; Pant, 2013). Various species of Orchids exhibited diuretic, antirheumatic, anti-inflammatory, anticarcinogenic, hypoglycemic activities, antimicrobial, anticonvulsive, relaxation, neuroprotective, antiviral activities, etc. (Pérez Gutiérrez, 2010). The interesting species within the genus *Coelogyne*, comprising considerable interest for screening of biological activity of various parts of the plants, is *Coelogyne huettneriana* Rchb. The current study was conducted to investigate the antioxidant properties of biomarkers of oxidative stress [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as biomarkers of lipid peroxidation, aldehydic and ketonic derivatives of oxidative modification of proteins (OMP), total antioxidant capacity TAC] in the equine erythrocytes after *in vitro* treatment with extracts obtained from various parts of *C. huettneriana* for determination and exemplify their further potential development and use as a drug against metabolic diseases in medicine and veterinary. Our current scientific project undertaken in the frame of the cooperation program between the Institute of Biology and Environmental Protection (Pomeranian University in Słupsk, Poland) and M.M. Gryshko National Botanic Gardens of the National Academy of Sciences of Ukraine, directed to assessment of medicinal properties of tropical plants has encompassed some tropical mega-diverse genera, including Orchidaceae.

The leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettneriana*, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanical Garden (NBG), National Academy of Science of Ukraine. Since 1999, the whole collection of tropical and subtropical plants (including orchids) has the status of a National Heritage Collection of Ukraine. Besides that, the NBG collection of tropical orchids was registered at the Administrative Organ of CITES in Ukraine (Ministry of Environment, registration No. 6939/19/1-10 of 23 June 2004). Freshly leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettneriana* were washed, weighted, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in the ratio of 1:19, w/w) at room temperature.

Eighteen healthy adult horses from the central Pomeranian region in northern Poland (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. Blood was drawn from the jugular veins of the horses 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 and held on the ice until centrifugation at 3,000 rpm for 5 min. The plasma

was removed. A pellet of blood was washed three times in sterile 4 mM phosphate buffer (pH 7.4). Erythrocyte aliquots were used in the study. The pellet of blood was re-suspended in sterile 4 mM phosphate buffer (pH 7.4). A volume of 0.1 ml of the extracts obtained from leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* was added to 1.9 ml of clean equine erythrocytes. After incubation of the mixture at 37°C for 60 min with continuous stirring, it was prepared for TBARS, OMP, and TAC assay. The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) by Kamyshnikov (2004). To evaluate the protective effects of the extracts against free radical-induced protein damage in the erythrocyte suspension, a content of carbonyl derivatives of protein oxidative modification (OMP) assay based on the spectrophotometric measurement of aldehydic and ketonic derivatives 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).

Statistical analysis of the data obtained was performed by employing mean  $\pm$  standard error of the mean (S.E.M.). All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test ( $p > 0.05$ ). In order to find significant differences (significance level,  $p < 0.05$ ) between groups, the Kruskal-Wallis test by ranks was applied to the data (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using Statistica 13.3 software (StatSoft, Poland).

Our results revealed that extracts obtained from the leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* after incubation with erythrocyte samples caused to increase in the TBARS level by 46.2%, 67.1%, and 25.6%, respectively ( $p = 0.000$ ) compared to untreated samples (control). On the other hand, the content of aldehydic derivatives of OMP in the erythrocyte samples after incubation with extracts obtained from the leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* was not altered ( $29.57 \pm 1.45 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $30.13 \pm 1.67 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , and  $31.37 \pm 1.33 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$  compared to the untreated samples  $31.16 \pm 1.89 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Moreover, the content of ketonic derivatives of OMP in the erythrocyte samples after incubation with extracts obtained from the leaves and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* was non-significantly decreased (by 14.3% and 1.6%,  $p > 0.05$ ). Extract derived from pseudobulbs resulted in a statistically significant decrease in the content of ketonic derivatives of OMP in the erythrocyte samples (by 17.5%,  $p < 0.05$ ). Non-significant changes between TAC levels in the untreated samples and tested samples incubated with extracts derived from the leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* were observed.

The obtained results demonstrated the prooxidative activities in the equine erythrocytes and the compounds present in the extracts are toxic in the dose used in the current study. Our results also showed that extracts derived from the leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* after incubation with erythrocyte samples caused to remaining the TAC level at a high level as compared to the group treated by phosphate buffer (controls), while levels of lipid peroxidation biomarkers were high. Future studies will be conducted to evaluate dose-dependent changes in the levels of oxidative stress biomarkers after incubation with extracts derived from the leaves, pseudobulbs, and blooming inflorescences of *C. huettnneriana* using various cell models.

*The authors sincerely thank The Visegrad Fund for providing facilities for the study.*

**Buyun L.<sup>1</sup>, Tiupova T.<sup>2</sup>, Opryshko M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>**  
BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN THE EQUINE PLASMA AND  
ERYTHROCYTES TREATED BY EXTRACT DERIVED FROM LEAVES OF *BEGONIA*  
*PUSTULATA* LIEBM.

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

<sup>2</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*  
*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

*Begonia* is a mega-diverse genus containing more than 1,800 species, with a very high proportion of microendemics and hotspots of diversity in the Andes and Southeast Asia (Hughes et al., 2018). Phytochemical constituents in *Begonia* species are known to be biologically active compounds and they are responsible for different activities such as antioxidant, antimicrobial, antifungal, and anticancer (Suresh and Nagarajan, 2009). It has become increasingly clear that all secondary metabolite components displayed antioxidant and antimicrobial properties through different biological mechanisms (Hossain and Nagooru, 2011). Variation in the chemical profile of extracts could influence their biological activities. Therefore, it was important to study their antioxidant activities.

In the current study, we decided to assess the antioxidant properties of an extract derived from *Begonia pustulata* Liebm. using equine plasma and erythrocyte suspension as a cell model. Our current scientific project undertaken in the frame of the cooperation program between the Institute of Biology and Earth Sciences (Pomeranian University in Słupsk, Poland) and M.M. Gryshko National Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, directed to assessment of medicinal properties of tropical plants has encompassed some tropical mega-diverse genera, including representatives of Begoniaceae family. *Begonia pustulata* originates from Mexico, from the areas around Veracruz, and on the Caribbean slopes of the Sierra Madre in Oaxaca. There it grows on clayey slopes at altitudes of 400 to 1,500 m above sea level, often in rather harsh conditions, especially during the dry season. It grows via a rhizome creeping along the ground as a ground cover and forms dense carpets over time. The up to about 12 cm big leaves have white dots. It belongs to the section *Weilbachia*. The leaves are hairy on both sides and have white spots on top, red with green leaf veins underneath. They bear numerous, upwardly directed small bulging eyes resembling pustules (hence “pustulata”), each bearing a reddish hair. The leaf stalks and the rhizome are also hairy. *B. pustulata* flowers with white flowers that stand on long stems high above the leaves (<https://www.jungle-leaves.de/>).

Therefore, the current study was conducted to investigate the biomarkers of oxidative stress [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as biomarkers of lipid peroxidation, aldehydic and ketonic derivatives of oxidative modification of proteins (OMP), total antioxidant capacity TAC] in the equine plasma and erythrocytes as the experimental model after *in vitro* treatment with an extract derived from leaves of *B. pustulata*.

The leaves of *B. pustulata*, 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, weighted, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in the ratio of 1:19, w/w) at room temperature. The extracts were then filtered and used for analysis. All extracts were stored at -25 °C until use. Eighteen healthy adult horses from the central Pomeranian region in Poland (Strzelinko,

N54°30'48.0" E16°57'44.9"), aged  $8.9 \pm 1.3$  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. 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 3,000 rpm for 5 min to remove plasma. The pellet of blood was re-suspended 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 (the final concentration of the extract was 5 mg/mL). For positive control, phosphate buffer was used. After incubation of the mixture at 37°C for 60 min with continuous stirring, erythrocytes and plasma aliquots were used in the study.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) by Kamyshnikov (2004). To evaluate the protective effects of the extract obtained from leaves of *B. pustulata* against free radical-induced protein damage, a content of carbonyl derivatives 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 total antioxidant capacity (TAC) level in the samples was estimated by measuring the TBARS level after Tween-80 oxidation. This level was determined spectrophotometrically at 532 nm by Galaktionova and co-workers (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 (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 13.3 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Leaf extract incubated with equine erythrocytes caused a non-considerable increase of TBARS level ( $36.96 \pm 2.55 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) (by 3%,  $p > 0.05$ ) compared to the untreated samples ( $35.88 \pm 3.02 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). Levels of TBARS in the plasma treated with *B. pustulata* extract were at the same level. The content of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins in the erythrocytes was decreased (by 6.2%,  $p > 0.05$ ) compared to untreated samples. On the other hand, ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in the erythrocytes were a statistically significant decrease ( $33.48 \pm 1.57 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) compared to the untreated samples ( $39.47 \pm 2.2 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). The decrease was 15.2% ( $p < 0.05$ ). Contrarily, the content of ketonic derivatives of oxidatively modified proteins in the plasma was statistically significantly increased (by 21.1%,  $p < 0.05$ ) compared to untreated samples. On the other hand, the levels of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins in the plasma were a non-significant change. Interestingly, the increase of the lipid peroxidation biomarkers resulted in statistically non-significant TAC enhancement in the erythrocytes by 8.7% ( $p > 0.05$ ) and decrease (by 3.9%,  $p > 0.05$ ) in the equine plasma treated with *B. pustulata* extract.

The results of this research indicated that crude extract derived from *B. pustulata* leaves has an effective antioxidant effect after incubation with the suspension of equine

erythrocytes. On the other hand, an increase in the levels of ketonic derivatives of OMP was observed after treatment by extract using equine plasma. The pronounced effect of *B. pustulata* extract, probably, could be attributed to its secondary metabolite content, e.g. polyphenols and flavonoids. Finally, further investigation is necessary to reveal the exact cellular mechanisms of the effect of *B. pustulata* extract on the erythrocyte and plasma function. Therefore, further investigations need to be carried out to isolate and identify the antioxidant compounds present in the plant extract.

*The authors gratefully acknowledged The Visegrad Fund for providing facilities for the study.*

**Buyun L.<sup>1</sup>, Tiupova T.<sup>2</sup>, Opryshko M.<sup>1</sup>, Gyrenko O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>**  
BIOMARKERS OF LIPID AND PROTEIN OXIDATION IN THE MUSCLES OF  
RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM) TREATED BY  
EXTRACT DERIVED FROM LEAVES OF *BEGONIA PUSTULATA* LIEBM.

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

<sup>2</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*  
*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Antibiotics are widely used as disease control agents and growth promoters in aquaculture. Intensive fish farming drives the indiscriminate use of antibiotics, which results in residues of antibiotics in cultured aquatic products and bacterial resistance as well as raised concerns recently because of the potential threats to human health (Mo et al., 2017; Chen et al., 2020). It leads to searching for eco-friendly alternatives (Defoirdt et al., 2011; Vivas et al., 2019). Nowadays, an alternative is the use of plants or their extracts in the aquaculture industry because of their effectiveness, safety, environmental friendliness, and less drug resistance. The application of herbal medicines in the prevention and control of fish diseases is mainly attributed to the powerful immune enhancement, antioxidation, or direct anti-pathogenic efficacies of their effective components, such as polyphenols, polysaccharides, saponins, flavonoids, alkaloids, and essential oils (Zhang et al., 2022). Therefore, the main goal of this research was to study the potential *in vitro* use of extract derived from leaves of *Begonia pustulata* Liebm. in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), one of the most commercially important species grown in Poland. The antioxidant properties of *B. pustulata* leaves were analyzed by an *in vitro* study using the homogenate of the muscle tissue of rainbow trout exposed to extract derived from leaves of *B. pustulata*, where the toxicological effect and antioxidant activity were assessed at 2 h. Our current scientific project undertaken in the frame of the cooperation program between the Institute of Biology and Earth Sciences (Pomeranian University in Słupsk, Poland) and M.M. Gryshko National Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Ukraine, directed to assessment of medicinal properties of tropical plants has encompassed some tropical mega-diverse genera, including representatives of Begoniaceae family.

The leaves of *B. pustulata*, cultivated under glasshouse conditions, were sampled at M.M. Gryshko National Botanic Garden, National Academy of Science of Ukraine. Freshly collected leaves were washed, weighted, crushed, and homogenized in 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) (in the ratio of 1:19, w/w) at room temperature. The extract was then filtered and investigated. Clinically healthy rainbow trout with a body mass of 80-120 g were used in the experiments. Muscle tissue was sampled after the decapitation of fish. The minced muscle tissue was rinsed clear of blood with cold isolation buffer and homogenized in a

homogenizer H500 (POL-EKO) with a motor-driven pestle on ice. Homogenates were centrifuged at 3,000 rpm for 15 min at 4 °C. The supernatant of the muscle tissue was used to incubate with the extract derived from the leaves of *B. pustulata* (in a ratio of 19:1, v/v; the final concentration of 5 mg/mL) at room temperature. The control group (trout muscle tissue) was incubated with 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) (in a ratio of 19:1, v/v). The incubation time was 2 hours. An aliquot of the homogenate was used to determine the lipid peroxidation status of the sample by measuring the concentration of 2-thiobarbituric-acid-reacting substances (TBARS), according to the method of Kamyshnikov (2004). Carbonyl derivatives as biomarkers of oxidatively modified proteins were assessed in the incubated homogenates. 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 (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 TBARS level after Tween 80 oxidation (Galaktionova et al., 1998). In order to find significant differences (significance level,  $p < 0.05$ ) between groups, the Mann–Whitney U test was applied to the data (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using Statistica 13.3 software (StatSoft, Poland).

The TBARS content as a biomarker of lipid peroxidation in the muscle tissue after *in vitro* incubation with an extract derived from *B. pustulata* was increased by 18.9% ( $p > 0.05$ ). The change was statistically non-significant compared to the untreated samples. The levels of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins were non-changed, while the levels of ketonic derivatives decreased by 10.8% ( $p > 0.05$ ) compared to untreated samples. The results revealed that an extract derived from *B. pustulata* did not change the TAC level in the muscle tissue. The present findings suggest that the extract derived from leaves of *B. pustulata* at the dose tested has shown non-significant alteration in the levels of oxidative stress biomarkers in the muscle tissue after *in vitro* incubation with an extract.

The protective effects of an extract derived from the leaves of *B. pustulata* became apparent by amelioration in a decrease of protein oxidation in the muscle tissue of rainbow trout. The pronounced effect of leaf *B. pustulata* extract could be attributed to its secondary metabolites, such as polyphenols and flavonoids. Phytochemical constituents in *Begonia* species are known to be biologically active compounds and they are responsible for different activities such as antioxidant, antimicrobial, antifungal, and anticancer (Suresh and Nagarajan, 2009; Villa-Ruano et al., 2017; Grigoletto et al., 2020; Marchioni et al., 2022). Thus, it was important to know the chemical composition of extracts to correlate with their antioxidant properties. Therefore, further investigations need to be carried out to isolate and identify the antioxidant compounds present in this plant extract.

*The authors gratefully acknowledged The Visegrad Fund for providing facilities for the study.*

**Kasiyan O.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>2</sup>, Kurhaluk N.<sup>2</sup>, Yurchenko S.<sup>1</sup>, Manenko A.<sup>3</sup>**

**INCIDENCE AND MORTALITY OF THYROID CANCER AMONG THE POPULATION OF POMERANIAN VOIVODESHIP (POLAND) IN THE YEARS 2008-2018**

<sup>1</sup>*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine*

<sup>2</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*

*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

<sup>3</sup>*Lviv Medical Institute, Lviv, Ukraine*

The incidence of thyroid cancer worldwide has increased significantly over the past 3 decades, due predominantly to an increase in papillary thyroid cancer (Seib and Sosa, 2019). This disease is projected to become the fourth leading type of cancer across the globe (Kim et al., 2020). The increase in health care expenditures related to managing these presumably low-risk cancers, without a clear patient benefit, has resulted in a backlash against the early detection of thyroid cancer (Tufano et al., 2015). Although most of these cancers are small and localized, population-based studies have documented a significant increase in thyroid cancers of all sizes and stages, in addition to incidence-based mortality for papillary thyroid cancer (Seib and Sosa, 2019). From 1990 to 2013, the global age-standardized incidence rate of thyroid cancer increased by 20%. This global rise in incidence has been attributed to several factors, including increased detection of early tumors, the elevated prevalence of modifiable individual risk factors (for example, obesity), and increased exposure to environmental risk factors (for example, iodine levels) (Kim et al., 2020).

In Poland, the number of cases of thyroid cancer in 2010 was 2192, of which about 384 in men and 1808 in women. Thyroid neoplasms constitute 0.5% of cases in men and 2.6% in women. Over the past two decades, the number of cases has increased significantly. The number of cases of thyroid cancer shows an increase with age up to the seventh decade of life, then decreases. The risk of disease increased for both sexes until the seventh decade of life, after which it decreased. Starting from the 90s of the twentieth century, a sharp increase in the incidence of women is visible and slightly slower in the men population. The incidence among both sexes in all age groups duplicates trends observed in the entire population: faster growth in women, especially since the beginning of the 1990s (Wojciechowska and Didkowska, 2009). Among patients diagnosed with thyroid cancer in 2000-2002, 1-year survival rates were 88.2% in men and 92.6% in women, while among patients diagnosed in the years 2003–2005, the 1-year survival rate was 88.4% and women 94.3%. The 5-year survival among patients with thyroid cancers during the first decade of the 21st century improved: for men 76.8% versus 84.6%, while for women 90.7% versus 93.3% (Wojciechowska and Didkowska, 2009).

In 2010, the incidence of thyroid cancer in both sexes in Poland was lower than the average for European Union countries (data from 2009). Thyroid tumors account for 0.1% of cancer mortality among men and 0.5% among women. The number of mortality due to thyroid cancers in 2010 was 261, i.e. 74 among men and 187 among women. Most mortality cases from thyroid cancers occur after the age of 50. The risk of thyroid cancer mortality increases with age from the sixth decade of life to a maximum in the eighth-ninth decade of life (around 3/105 in men and around 8/105 in women). Mortality from thyroid cancer in both age groups and sexes is decreasing (1965-2010). In 2010, thyroid cancer mortality in Poland was lower among men and higher in women than the average for European Union countries (data from 2009) (Wojciechowska and Didkowska, 2009).

A 10-year estimated number of prevalent cases of thyroid cancer in Poland as a proportion in 2018 (according to the European population) was estimated. The lowest 10-

year estimated number of prevalent cases of thyroid cancer in women as a proportion in 2018 was recorded in Lublin Voivodeship (7.2 per 100,000 individuals), Opole Voivodeship (7.7 per 100,000 individuals), and Lower Silesian Voivodeship (7.7 per 100,000 individuals). On the other hand, the highest 10-year estimated number of prevalent cases of thyroid cancer in women as a proportion in 2018 was recorded in Pomeranian Voivodeship (15.3 per 100,000 individuals) and Świętokrzyskie Voivodeship (16.8 per 100,000 individuals). In the men population, the highest 10-year estimated number of prevalent cases of thyroid cancer as a proportion in 2018 was noted in Pomeranian and Lesser Poland Voivodeships (3.1 per 100,000 individuals), and Świętokrzyskie Voivodeship (3.5 per 100,000 individuals). The lowest 10-year estimated number of prevalent cases was demonstrated in Lublin and Lubusz Voivodeships (1.8 per 100,000 individuals), and Lower Silesian Voivodeship (1.9 per 100,000 individuals).

In the women population, the highest 10-year estimated number of mortality of thyroid cancer as a proportion in 2018 was recorded in Lublin, Lubusz, Podkarpackie, Lesser Poland, and Podlaskie Voivodeships (0.7 per 100,000 individuals). On the other hand, the lowest 10-year estimated number of mortality of thyroid cancer in women as a proportion of 2018 was recorded in Opole Voivodeship (0.4 per 100,000 individuals). In the men population, the highest 10-year estimated number of mortality of thyroid cancer as a proportion in 2018 was noted in Greater Poland, West Pomeranian, Łódź, Podkarpackie, and Lublin Voivodeships (0.5 per 100,000 individuals). The lowest 10-year estimated number of mortality was demonstrated in Pomeranian, Warmian-Masurian, and Lubusz Voivodeships (0.3 per 100,000 individuals).

We also evaluated the relative risk of increased morbidity and mortality of thyroid cancer among different age and sex groups in the population of Pomeranian and West Pomeranian Voivodeships in Poland. The study covered the male and female populations of different age categories (0-19 years, 20-85 years, and all age categories in general 0-85 years) of Pomeranian Voivodeships (northern Poland). The relative risk (RR) of increasing morbidity and mortality among different age and sex groups was determined using the statistical program Epi-info.

The relative risk of increasing the incidence of thyroid cancer and mortality from this pathology from 2008 to 2018 among different age and sex groups of the population of Pomeranian and West Pomeranian Voivodeship was assessed. The results of the study showed that in all age-sex groups of the population of Pomeranian Voivodeship, the number of patients with thyroid cancer increased from 2008 to 2018, and the relative risk of increasing morbidity through this period ranged from 3.049 ( $p = 0.1835$ ) to 10.0 ( $p = 0.0032$ ). The largest number of patients with this pathology is observed among the female population. The highest values in relative risk of thyroid cancer in the population in 2018 compared to 2008 were recorded in the group of men aged 20-85 years ( $RR = 7.751$ ,  $p < 0.001$ ), also high among men aged 0 to 85 years ( $RR = 7.402$ ,  $p < 0.001$ ), as well as among the female population aged 0-19 years ( $RR = 7.023$ ,  $p = 0.0193$ ), due to which there was a high value of RR in the age group from 0 to 19 years among all women and men ( $RR = 10.0$ ,  $p = 0.0032$ ).

Assessment of the relative risk of thyroid cancer in 2018 among different sexual groups of the population in Pomeranian Voivodeship showed that the RR rates of this pathology among women were higher compared to men in the studied age groups: from 0 to 19 years and from 20 to 85 years ( $RR = 2.475$ ,  $p = 0.0969$  and  $RR = 3.553$ ,  $p < 0.001$ , respectively), as well as in all age groups in general ( $RR = 3.590$ ,  $p < 0.001$ ).



No deaths from thyroid cancer among the population of the Pomeranian Voivodeship in the age group from 0 to 19 years in 2008-2018 have been established. Statistics showed that, despite the increase in the incidence of thyroid cancer, mortality from this disease during the study period was decreased in all age and sex groups in the population of Pomeranian Voivodeship. Therefore, the relative risk of mortality from thyroid cancer in 2018 compared to 2008 among different age and sex groups in the population of Pomeranian Voivodeship was  $<1$  and ranged from 0.341 ( $p = 0.0163$ ) among women aged 0-85 years to 0.593 ( $p = 0.1862$ ) among men aged 0-85 years.

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

**Katafiasz J., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF HEMP (*CANNABIS SATIVA* L.) OILS AND EXTRACTS IN THE DIMINISHED OXIDATIVE STRESS IN RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISSWALBAUM*)

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Science,  
Pomeranian University in Słupsk, Poland  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Hemp (*Cannabis sativa* L.) is considered to be one of the oldest cultivated plants. They are herbaceous, anemophilic plants belonging to the *Cannabaceae* family, which were probably born about 27,800,000 years ago in the Tibetan Plateau. Over 500 chemicals have been distinguished in hemp, 140 of which are terpenes. They are responsible for a special smell and taste, thus, constituting the main component of the essential oil of these plants. However, phytocannabinoids are of the greatest interest among the ingredients in cannabis. There are over 70 known of them, but the most important compounds that belong to this group are  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), and cannabinol (CBN) (Iffland and Grotenhermen, 2017; Kumar et al., 2019; Montero-Oleas et al., 2020).

Today, there is a growing need for compounds generally known as "cannabinoids" with a wide variety of therapeutic and nutritional properties, and more and more people from different countries are consuming such products. However, the international community has yet to reach an agreement on cannabis and its many potential benefits of cannabis. Unfortunately, there is still a conviction on the international and domestic market that hemp has a narcotic effect, mainly due to THC. However, it is only 0.2%, so hemp does not have a psychotic effect, while in *Cannabis indica* it is present in an average amount of 16% (*The Health Effects of Cannabis and Cannabinoids: The Current State of Evidence and Recommendations for Research*, 2017).

Despite all the concerns about cannabis, cannabinoids can be used as a promising tonic, analgesic, antipyretic, antiemetic, anti-inflammatory, anti-epileptic, and anti-cancer agents. They also show great antioxidant properties for humans and animals. Thanks to this, they can reduce the economic losses for salmonids, such as the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), all over the world. All this is possible thanks to the high content of second metabolites in the plant (Bostwick, 2012; Mechoulam, 2012; Whiting et al., 2015).

According to European Industrial Hemp Association, the total area of crops in Europe in 2014 was 17,000 hectares and was record-breaking for 10 years. The next year was more fruitful because only in Poland as many as 4.8 thousand were cultivated cannabis farming. This is over ten times more than in the previous years. Increased attention to hemp in the world has been increased since the 1990s, mainly due to the growing interest in the

problem of saturation of areas polluted by the agglomeration of people and industry through the cultivation of renewable resources, e.g. fiber plants, which are used for clothing and the production of cellulose (Kaniewski et al., 2017; Irakli et al., 2019). The cultivation of hemp is multifunctional, sustainable, and with a low environmental impact. Hemp is suitable for the treatment of soils excluded by the metallurgical and mining industries. The cultivation of these plants inhibits the excessive growth of individuals not recommended for the given (Iqbal et al., 2018; Husain et al., 2019).

In 2019-2020, we have conducted research on hemp oils and extracts, checking their antioxidant activity *in vitro* using a model of the blood of a healthy rainbow trout and trout affected by ulcerative dermal necrosis (Katafiasz et al., 2021a). Oxidative stress biomarkers were used to determine the intensification of the lipid peroxidation process according to 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins, and total antioxidant capacity (TAC). The biochemical analysis demonstrated that hemp oils and extracts significantly inhibited the levels of TBARS and carbonyl derivatives of oxidatively modified proteins with a simultaneous increase in TAC levels in the blood of rainbow trout. The results were remarkable, as better antioxidant effects in the blood of healthy rainbow trout were achieved with hemp oils, while in the blood of the rainbow trout affected by ulcerative dermal necrosis, a comparable effect was achieved, only with extracts of this plant (Katafiasz et al., 2021b).

The obtained results suggest that there are still many secrets hidden in cannabis that must be discovered, and the plant deserves to be nominated as a candidate to save mankind as a promising source of medicine, food, and feed in the future. Hemp extracts may be a rational therapeutic strategy for the prevention and treatment of various diseases in salmonids related to oxidative stress. The important role of medicinal herbs in the prevention and treatment of many diseases throughout the history of life is inevitable (Katafiasz et al., 2021b).

**Kurhaluk N., Tkachenko H.**

**BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN THE PLASMA OF MICE WITH ACUTE ETHANOL-INDUCED INTOXICATION**

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences,  
Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Ethanol exhibits its harmful effects through the direct generation of reactive metabolites, including free radical species. These substances react with most of the cell components (lipids, proteins, DNA), changing their structures and functions (Ostrowska et al., 2004). On the other hand, ethanol contributes to other mechanisms that finally promote enhanced oxidative damage (Kera et al., 1988; Nordmann et al., 1990). Experimentally, the ethanol-induced decrease in the main antioxidant systems (superoxide dismutase,  $\alpha$ -tocopherol, ascorbate, and selenium) is also a likely contributor to oxidative stress (Hagen et al., 1989; Nordmann et al., 1990; Loguercio et al., 1996).

The proper structure and composition of cellular membranes are of high importance to their biological functions. A wide range of membrane functions could be modulated by ethanol due to an ethanol-associated increase in the level of fatty acid unsaturation and a decrease in the total amount of lipids in the cells increasing the membrane fluidity (Zloch, 1994; Ostrowska et al., 2004). It was demonstrated that, during ethanol-induced intoxication by the liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, an increase in the reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and acetaldehyde leads to the manifestation of

xanthine oxidase activity, the main source of superoxide anions (Nordmann, 1994). After chronic ethanol-induced intoxication, metabolism by microsomal cytochrome P<sub>450</sub> enzymes is enhanced and is accompanied by the generation of free radicals as well (Schisler and Singh, 1989, Shaw and Jayatilleke, 1990). The reactions of free radicals with polyunsaturated fatty acids of membrane phospholipids and with lipid hydroperoxides are characterized by extremely high rate constants.

In the current study, we evaluated the biomarkers of lipid peroxidation (conjugated dienes, 2-thiobarbituric acid reactive substances), protein damage (aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins), and the total antioxidant capacity in the blood plasma of mice with acute ethanol-induced intoxication.

Healthy male white Balb/c mice (*Mus musculus*), weighing about 20–30 grams and aged about 2–3 months, were used in the experiments. The data were collected from 12 adult animals divided into two groups, i.e. untreated control (6 animals) and acute ethanol-induced toxicity (6 animals). The experiments were performed by the Guidelines of the European Union Council and the current laws and were approved by the Ethical Commission (2612/2016).

Acute exposure to ethanol was induced by intraperitoneal injection of ethanol in a dose of 0.75 g per kg b.w. per day. Ethanol was diluted from a 95% (v/v) solution to a concentration of 20% (v/v) with physiological saline (0.9%) and was administered as intraperitoneal (IP) injections at doses of 0.75 g per kg b.w. or in an injection volume 4.73 mL per kg b.w. per day during 10 days of the experiment as described by Powers and Chester (2014). Negative control mice were injected with 0.9% NaCl. Samples were collected 24 h after the last drug administration. Blood samples were taken from the caudal vein using syringes in less than 1 min and transferred to tubes with K<sub>2</sub>-EDTA.

The level of conjugated dienes was determined according to the Kamyshnikov method (2004). The structures of conjugated dienes with alternating double and single bonds between carbon atoms absorb wavelengths of 230–235 nm in the UV region and are expressed in nmol per mL of plasma. 2-Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were measured using the method described by Kamyshnikov (2004) and expressed in nmol of malonic dialdehyde (MDA) per mL of plasma. The level of oxidatively modified proteins (OMP) was estimated using the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acids with 2,4-dinitrophenyl hydrazine (DNFH), as described by Levine et al. (1990) and modified by Dubinina et al. (1995). Levels of carbonyl groups were determined spectrophotometrically as aldehydic derivatives (AD) and ketonic derivatives (KD), and expressed in nmol per mL of plasma. The level of total antioxidant capacity (TAC) in the plasma was estimated spectrophotometrically with Tween 80 oxidation at 532 nm by measuring the TBARS level following the method described by Galaktionova et al. (1998).

Results were expressed as mean  $\pm$  S.D. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors tests ( $p > 0.05$ ) and homogeneity of variance was checked by using Levene's test. The significance of differences in parameters between untreated control and exposed groups was examined using a one-way analysis of variance (ANOVA). We also used Bonferonni's post-test (Zar, 1999). All statistical calculations were performed on separate data from each group with STATISTICA 13.3 software (StatSoft Inc., Poland).

Lipid reactions with reactive oxygen species (ROS) and subsequent transformations result in the formation of many low molecular weight degradation products. Conjugated dienes are the initial products of these processes. The exposure to ethanol was associated with elevated levels of free radical-induced oxidation of lipids in the initial stage of lipid

peroxidation (LPO), compared to the untreated control group ( $7.72 \pm 0.74$  vs.  $3.88 \pm 0.58$   $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). The increase was 199% ( $p < 0.05$ ). TBARS are the end products of the terminal stages of lipid peroxidation processes. The TBARS concentration was non-significantly decreased in the ethanol-exposed mice compared with the untreated control group ( $15.33 \pm 2.57$  vs.  $16.23 \pm 2.11$   $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). The increase in the level of conjugated dienes was 199% ( $p < 0.05$ ). Intensification of free radical oxidation causes changes in proteins and their structure. Such changes are presented as carbonyl derivatives consisting of aldehydic and ketonic derivatives. The concentration of carbonyl derivatives (AD and KD derivatives) was higher in the ethanol-exposed group compared to the untreated control mice ( $9.12 \pm 2.33$  vs.  $4.22 \pm 0.56$   $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$  and  $8.45 \pm 1.96$  vs.  $3.98 \pm 0.22$   $\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively). The increase in the level of AD and KD derivatives was 216% ( $p < 0.05$ ) and 212% ( $p < 0.05$ ), respectively. The TAC value decreased statistically significantly after the ethanol exposure to ( $16.11 \pm 0.98\%$ ) compared to the untreated control ( $22.15 \pm 1.12\%$ ) (decrease by 27.3%,  $p < 0.05$ ).

Results obtained from the study of Ostrowska and co-workers (2004) support the suggestion that chronic ethanol consumption leads to important changes in membrane lipid organization in the liver and brain, evidenced by an increase in lipid peroxidation products, such as lipid hydroperoxides and their metabolites (malondialdehyde and 4-hydroxynonenal), and, as a consequence, to damage of liver cell membrane, as observed on electron microscopic evaluation (Ostrowska et al., 2004). It has also been demonstrated that ethanol exposure leads to impaired cellular respiration, decreased function of complexes I, II, and IV, and a reduction in oxidative phosphorylation in ethanol-treated myotubes and muscle from ethanol-fed mice. These perturbations resulted in lower skeletal muscle ATP content and redox ratio ( $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ). Ethanol also caused a leak of electrons, primarily from complex III, with the generation of mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and reverse electron transport. Oxidant stress with lipid peroxidation (2-thiobarbituric acid reactive substances) and protein oxidation (carbonylated proteins) was increased in myotubes and skeletal muscle in mice and humans with alcoholic liver disease (Kumar et al., 2019).

Acute ethanol exposure induces an acute fatty liver (Relja et al., 2012). We hypothesized that the generation of ROS may be influenced by acute ethanol exposure. Accordingly, we now demonstrated that oxidative stress was strongly increased by ethanol in our model of healthy male white Balb/c mice. This effect was at least partly brought about by a reduced level of TAC resulting in increased levels of biomarkers of lipid peroxidation and protein damage after acute ethanol exposure.

*This research has been supported by The Visegrad Fund (Bratislava, Slovak Republic), and it is cordially appreciated by the authors.*

**Kurhaluk N., Tkachenko H.**

**PROTECTIVE EFFECTS OF MELATONIN AGAINST LPS-INDUCED SEPTIC  
HEPATIC INJURY IN MICE: A POTENTIAL ROLE OF ALTERATIONS IN  
MITOCHONDRIAL RESPIRATORY FUNCTION**

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in  
Słupsk, Słupsk, Poland  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Lipopolysaccharide (LPS) provokes severe inflammation and cell death in sepsis, with the liver being the major affected organ (Li et al., 2021). Hepatic dysfunction has an exceptional prognostic relevance for the course of sepsis (Koch et al., 2011; Xiong et al., 2017). Moreover, it is a powerful independent predictor of mortality (Dizier et al., 2015).

Presently, treatment for sepsis-related hepatic damage is mainly focused on the eradication of the underlying infection and extracorporeal liver support (Xiong et al., 2017). The novel treatment options for sepsis and sepsis-associated organ injury are imperative nowadays.

Melatonin is an endogenous neuroendocrine hormone synthesized and secreted by the pineal gland, as well as most of the organs and tissues of organisms (Hardeland et al., 2006). Although the primary functions of melatonin are associated with sleep cycle regulation (Arendt et al., 1985), it recently has shown pleiotropic biological and pharmacological properties, such as anti-oxidant (Reiter et al., 2016), anti-inflammation (Dong et al., 2016; Zhang et al., 2021), anti-fibrosis (Hu et al., 2016), anti-carcinogenesis (Ma et al., 2016; Li et al., 2018), and maintaining cellular homeostasis (Hu et al., 2016; Chuffa et al., 2019). Several studies have shown that melatonin could protect against hepatic injury (Gao et al., 2021; Hu et al., 2021; El-Sisi et al., 2021; Kurhaluk, 2021) by regulating apoptosis and autophagy, improving mitochondrial function. However, the underlying mechanisms that melatonin improves LPS-induced hepatic injury remain unclear. Thus, the current study aimed to assess the parameters of mitochondrial oxygen consumption in the hepatic tissue of mice with LPS-induced inflammation and study the modulating effects of melatonin in the prevention of this toxicity.

The animals used in this experiment were 2 to 3-month-old male white mice (*Mus musculus*). The animals were housed in cages (6 individuals in each) in rooms with artificial lighting (8.00-20.00 – light, 20.00-8.00 – darkness) under conventional conditions ( $25 \pm 2$  °C temperature; 45-60% relative humidity). Mice were allowed ad libitum access to water and food. The animals previously acclimatized to the light/dark cycle for 7 days: darkness = 12: 12 (12 hours light 750 Lx / 12 hours darkness; lighting from 6.00 to 18.00) in the spring-summer period. After a period of acclimatization, mice were indiscriminately divided into three groups each group contained six mice. All the procedures and protocols were approved by the national and international guidelines and rules. To eliminate circadian rhythm changes, all examinations started in the early span of the animals' rest period (at 10.00 am and ended at midnight). After a 1-week adaptation period, mice were randomly divided into three groups: 1) untreated control (6 animals), 2) LPS-induced inflammation (6 animals), and 3) Melatonin treatment + LPS-induced inflammation (6 animals).

Regardless of whether the animal is active during the day, at night, or does not have a clear plan of activity, the maximum level of melatonin is always observed during the dark phase of a natural or artificially created cycle of alternating day and night (Binkley, 1988; Reiter, 1991; Arendt, 1995). Melatonin (Sigma-Aldrich Sp. z.o.o., Poznan, Poland) was introduced daily by intraperitoneal injections in a dose of 10 mg per kg body weight (b.w.) for 10 days in the early span of the animals' rest period (at 10.00 am and ended at midnight). It was dissolved in a minimum volume of ethanol and diluted in 0.9% NaCl to yield a dose of 10 mg per kg b.w., as described in previous studies by Bonnefont-Rousselot and Collin (2010) and Shin and co-workers (2015). Melatonin was intraperitoneally injected 30 min before ethanol.

Lipopolysaccharide (LPS, *E. coli* serotype 026:B6, Sigma-Aldrich Sp. z.o.o., Poznan, Poland) was injected once intraperitoneally in a 150- $\mu$ g dose per mouse, as described by Yang et al. (2013) and Blanque et al. (1999). The control mice were injected with 0.9% NaCl. At the end of the trial (10 days), the mice were promptly decapitated. Samples were collected 24 h after the last drug administration and injection of ethanol (between 10.00 am and 12.00 am).

The liver was removed immediately from mice after decapitation. One liver sample was used for each mitochondrial preparation. Mitochondria were isolated by differential

centrifugation according to Kondrashova and Doliba (1989) method. Mitochondrial respiratory function was measured in the multichannel chamber using a Clark-type electrode by the polarographic method of Chance and Williams (1955). Homogenates were added to the respiration chamber containing a total volume of 1.0 mL of incubation media. The medium contained 120 mM KCl, 2 mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM HEPES. Potassium hydroxide (1.0 N) was used to adjust the pH of the medium to 7.20 at 26°C. Succinate (0.35 mM final concentration) and  $\alpha$ -ketoglutarate (1 mM final concentration) were used as oxidative substrates. ADP (phosphate acceptor) was administered at a concentration of 0.2 mM. Measured mitochondrial oxygen consumption parameters were: State 2 (oxygen consumption before the addition of ADP), State 3 (oxygen consumption stimulated by ADP), State 4 (oxygen consumption after cessation of ADP phosphorylation), respiratory control ratio (RCR) described by Chance (ratio of state 3 to state 4), ADP/O ratio (ratio between nanomoles of ADP phosphorylated and nanomoles of oxygen consumed during state 3), and rate of phosphorylation (V<sub>ph</sub>). The respiratory control ratio and ADP/O ratio were calculated by the method of Chance and Williams (1955). Oxygen consumption was determined in the presence (state 3) or the absence (state 4) of phosphate acceptor and recorded as nanogram oxygen atoms per minute per milligram of protein. The respiratory control ratio by Chance was calculated as the ratio of state 3 to state 4 respiration rates. The ADP-to-oxygen-ratio (ADP/O) was calculated as the ratio of nmoles of added ADP per nanogram atoms of oxygen utilized during state 3 (Chance and Williams, 1955).

Results are expressed as mean  $\pm$  S.D. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors tests ( $p > 0.05$ ) and homogeneity of variance was checked using Levene's test (Zar, 1999). The significance of differences in the level of enzymes and substrates between control and examined groups was examined by one-way ANOVA. Bonferroni's post-test was applied as well. All statistical calculations were performed on separate data from each individual with STATISTICA 13.3 software (StatSoft Inc., Poland).

The mitochondrial oxygen consumption of the hepatic homogenates during LPS-induced inflammation, as well as combined treatment of melatonin and LPS-induced inflammation in mice, were carried out using the oxidation of FADH- (succinic acid, SC) and NADH-generating ( $\alpha$ -ketoglutarate, KGL) substrates. Results of the current study revealed that the LPS-induced inflammation model increased V<sub>3</sub>, RCR, and V<sub>ph</sub> by 69%, 41%, and 97% ( $p < 0.05$ ), respectively, for SC oxidation, while RCR, ADP/O ratio, and V<sub>ph</sub> were decreased by 30% ( $p < 0.05$ ) for KGL oxidation compared to control group. ADP/O ratio were non-significantly increased by 17% ( $p > 0.05$ ) for SC oxidation. ADP/O ratio and V<sub>ph</sub> were non-significantly decreased by 21% and 14% ( $p > 0.05$ ) for KGL oxidation compared to the control group. Melatonin treatment of LPS-exposed mice non-considerably decreased the V<sub>3</sub>, RCR, ADP/O, and V<sub>ph</sub> by 21.5%, 4.7%, 7.4%, and 27.3% ( $p > 0.05$ ) for SC oxidation compared to the LPS group. These results were confirmed by an increase of these parameters after adding KGL, i.e. by 13.5% ( $p > 0.05$ ) for V<sub>3</sub>, by 30% ( $p < 0.05$ ) for RCR, by 14% ( $p > 0.05$ ) for ADP/O ratio, and by 29.4% ( $p > 0.05$ ) for V<sub>ph</sub> after adding KGL.

Our results are in agreement with the study of Martín and co-workers (2000) regarding increases in the activities of mitochondrial respiratory complexes I and IV in a time-dependent manner after melatonin administration to rats. The activities of complexes II and III of the brain and liver were not affected (Martín et al., 2000). The mitochondrial damage induced by ruthenium red in rats was diminished by melatonin administration. Prevention was correlated with an increase in the activity of complexes I and IV (Martín et al., 2000). Moreover, melatonin in concentrations of 1 nM and 10–100 nM significantly

increased the activity of complexes I and IV in rat liver and brain mitochondria, respectively (Martín et al., 2000, 2002). The BN-PAGE histochemical procedure also revealed an increase in complex I activity after melatonin treatment (Martín et al., 2002). The effect on complex I was also studied using a BN-PAGE histochemical procedure to measure changes in its activity induced by melatonin; this study documented an increase in complex I activity after melatonin treatment (Martín et al., 2002). Regarding complex IV, melatonin only improves the activity of this complex when the enzyme is in its active form (Martín et al., 2002). The high redox potential of melatonin (0.94 V) (Tan et al., 2000) suggests it may interact with complexes of the electron transport chain and may donate and accept electrons, thereby increasing electron flow, an effect not possessed by other antioxidants (Martín et al., 2002). Moreover, melatonin also increases the production of ATP in control mitochondria and counteracts cyanide-induced inhibition of ATP synthesis (Martín et al., 2002).

In conclusion, the LPS-induced inflammation resulted in a significant increase in mitochondrial function at the FAD-generating substrate (succinate) oxidation. State 3, RCR, and  $V_{ph}$  were increased. These findings are consistent with a progressive uncoupling and decrease in efficiency of phosphorylation at the FAD-generated oxidation. Melatonin treatment had significant effects on the mitochondrial oxidation of the NADH-generated substrate ( $\alpha$ -ketoglutarate). Mitochondrial function is not changed by melatonin treatment in terms of succinate oxidation. This study confirmed the protective effects of melatonin on mitochondrial function under LPS-induced inflammation in mice. Melatonin treatment decreased the ability of mitochondria to oxidize FAD-generated substrates and mitochondrial coupling in LPS-induced inflammation. Melatonin has a significant effect on the oxidation of NAD-generated substrates. It improves mitochondrial coupling, as observed by improved RCR, ADP/O, and  $V_{ph}$ .

*This research has been supported by The Visegrad Fund (Bratislava, Slovak Republic), and it is cordially appreciated by the authors.*

**Kurhaluk N., Tkachenko H.**

#### MELATONIN APPLICATION IN TARGETING OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN MICE LIVER

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences,  
Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Melatonin (N-acetyl-5-methoxy-tryptamine) is secreted from the pineal gland at night under normal light or dark conditions (Bhattacharya et al., 2019). Melatonin synchronizes central and peripheral oscillators (fetal adrenal gland, pancreas, liver, kidney, heart, lung, fat, gut, etc.), allowing the temporal organization of biological functions through circadian rhythms to periodic environmental changes and, therefore, the adaptation of the individuals to the internal and external environments (Tordjman et al., 2017). Melatonin promotes adaptation through allostasis and stands out as an endogenous, dietary, and therapeutic molecule with important health benefits (Chitimus et al., 2020). Apart from circadian regulations, it was postulated that melatonin also has significant antioxidant, anti-aging, immunomodulation, and anticancer properties, as well as apoptotic, angiogenic, oncostatic, and antiproliferative effects on various oncological cells (Bhattacharya et al., 2019).

Oxidative stress is a key causing factor of liver damage induced by a variety of agents, and it is a major contributing factor in almost all conditions compromising liver function, including ischemia-reperfusion injury, nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, liver fibrosis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma

(Mortezaee and Khanlarkhani, 2018). Melatonin could be used for preventing and treating liver injuries and diseases (Zhang et al., 2017). It protects against liver injury by inhibiting oxidation, inflammation, hepatic stellate cell proliferation, and hepatocyte apoptosis, thereby inhibiting the progression of liver cirrhosis (Hu et al., 2019). Melatonin has been investigated to improve the outcome of organ transplantation by reducing ischemia-reperfusion injury due to its synergic effect with organ preservation fluids (Li et al., 2014; Esteban-Zubero et al., 2016).

The purpose of the current study was to assess levels of oxidative stress biomarkers [2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as a biomarker of lipid peroxidation, aldehydic and ketonic derivatives as biomarkers of oxidatively modified proteins (OMP)] in the hepatic tissue of mice treated by melatonin.

The animals used in this experiment were 2 to 3-month-old male white mice (*Mus musculus*). The animals were housed in cages (6 individuals in each) in rooms with artificial lighting (8.00-20.00 – light, 20.00-8.00 – darkness) under conventional conditions ( $25 \pm 2$  °C temperature; 45-60% relative humidity). Mice were allowed ad libitum access to water and food. The animals previously acclimatized to the light/dark cycle for 7 days: darkness = 12: 12 (12 hours light 750 Lx / 12 hours darkness; lighting from 6.00 to 18.00) in the spring-summer period. After a period of acclimatization, mice were indiscriminately divided into two groups each group contained six mice. All the procedures and protocols were approved by the national and international guidelines and rules. To eliminate circadian rhythm changes, all examinations started in the early span of the animals' rest period (at 10.00 am and ended at midnight). After a 1-week adaptation period, mice were randomly divided into two groups: 1) untreated control (6 animals), 2) Melatonin treatment (6 animals). Melatonin (Sigma-Aldrich Sp. z.o.o., Poznan, Poland) was introduced daily by intraperitoneal injections in a dose of 10 mg per kg body weight (b.w.) for 10 days in the early span of the animals' rest period (at 10.00 am and ended at midnight). It was dissolved in a minimum volume of ethanol and diluted in 0.9% NaCl to yield a dose of 10 mg per kg b.w., as described in previous studies by Bonnefont-Rousselot and Collin (2010) and Shin and co-workers (2015).

At the end of the trial (10 days), the mice were promptly decapitated. The liver was also immediately removed. Hepatic tissue was excised, weighed, washed in ice-cold buffer, and minced. Minced tissue was rinsed with cold isolation buffer 0.15 M KCl to remove the blood and homogenized in a glass Potter-Elvehjem homogenizer with a motor-driven Teflon pestle on ice. The isolation buffer consisted of 120 mM KCl, 2 mM  $K_2CO_3$ , 10 mM HEPES, and 1 mM EDTA; pH was adjusted to 7.2 with KOH. The tissue homogenate was used for the determination of TBARS level and oxidatively modified proteins (OMP) level.

Results were expressed as mean  $\pm$  S.D. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors tests ( $p > 0.05$ ) and homogeneity of variance was checked by using Levene's test. The significance of differences in parameters between untreated control and treated groups was examined using a one-way analysis of variance (ANOVA). We also used Bonferonni's post-test (Zar, 1999). Statistical analysis was carried out in one way, i.e. the effect of melatonin was compared with those of the control group. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ . All statistical calculations were performed on separate data from each group with STATISTICA 8.0 software (StatSoft Inc., Poland).

The TBARS level was non-significantly decreased in the melatonin-treated mice compared to the untreated control group ( $11.33 \pm 1.37$  nmol·mg<sup>-1</sup> protein vs.  $12.33 \pm 1.29$  nmol·mg<sup>-1</sup> protein, decrease by 8.1%,  $p > 0.05$ ). The concentration of aldehydic derivatives



of OMP was at the same level in the melatonin-treated group as in the untreated control mice ( $6.59 \pm 0.52 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$  vs.  $6.61 \pm 0.54 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ). Melatonin treatment resulted in a statistically non-significant decrease in the level of ketonic derivatives of OMP, i.e. ( $8.36 \pm 0.49 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$  vs.  $8.76 \pm 0.69 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ , decrease by 4.6%,  $p > 0.05$ ) compared to the untreated controls. The findings of our study are in agreement with the known actions of melatonin in relieving tissue oxidative burden, but also contribute to the understanding of its action by preventing an increase in oxidative stress. For example, Oleshchuk and co-workers (2019) have investigated the hepatoprotective effect of exogenous melatonin on animals with acute toxic hepatitis and demonstrated an ameliorating effect of melatonin on pro-oxidants and antioxidants, NO-NO-synthase systems balance, mitochondrial function, and histopathological lesions in the liver in rats with  $\text{CCl}_4$ -induced hepatitis. Results obtained by Wang and co-workers (2018) have shown that melatonin suppressed  $\text{CCl}_4$ -induced liver fibrosis, along with an improvement in histological changes, significant decreases in pathologic grading scores, and obvious decreases in hydroxyproline levels in the liver. Melatonin improved liver function indicated by decreased activities of serum alanine- and aspartate aminotransferases. In addition, melatonin exerted its antioxidant effects, as supported by decreased TBARS levels and increased glutathione peroxidase activities in the liver (Wang et al., 2018).

The liver is the organ that high concentration of melatonin accumulates, and it is the sole organ where circulating melatonin is metabolized. Melatonin is one of the best antioxidants that protect the liver, and its metabolites also have antioxidative functions directly through its radical scavenging ability and ability to reduce electron leakage from the respiratory complexes in the inner mitochondrial membrane (radical avoidance) (Reiter et al., 2014), as well as indirectly through the stimulation of antioxidant enzymes (Mortezaee and Khanlarkhani, 2018).

In conclusion, melatonin administration resulted in a non-significantly decrease in levels of oxidative stress biomarkers (TBARS, aldehydic and ketonic derivatives as biomarkers of oxidatively modified proteins) in the hepatic tissue of male mice.

*This research has been supported by The Visegrad Fund (Bratislava, Slovak Republic), and it is cordially appreciated by the authors.*

**Kurhaluk N.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>1</sup>, Hetmański T.<sup>2</sup>, Włodarkiewicz A.<sup>3</sup>, Tomin V.<sup>3</sup>**  
AGE-, SEX-, AND HABITAT-RELATED ALTERATIONS IN LEVELS OF ELEMENTS  
AND BIOMARKERS OF LIPID PEROXIDATION OF A WINTERING MUTE SWAN  
POPULATION (*CYGNUS OLOR*) LIVING IN COASTAL AREAS OF NORTHERN  
POLAND

<sup>1</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences,  
Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland;  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

<sup>2</sup>*Department of Earth Sciences, Institute of Biology and Earth Sciences,  
Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland;*

<sup>3</sup>*Department of Physics, Institute of Science and Technology,  
Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*

The mute swan [*Cygnus olor* Gmelin (Anatidae)] as a common water bird of lowland freshwaters and coastal shallows is an effective model system of environmental contamination. In the middle of the 20<sup>th</sup> century, mute swans wintered in Poland in small numbers and only on the Baltic coast. Gradually, their number and range increased. Currently, the species winters on all available unfrozen water reservoirs in Poland (from the

Baltic coast to the south). More than 70% of birds wintering in Poland are native specimens. The number of wintering birds depends on the character of winter and changes in the behavior of birds from Poland and areas located east and north. Many of these birds show strong attachment to permanent wintering grounds, while others change them from year to year and even during the winter (Wieloch and Remisiewicz, 2001). Large concentrations of swans occur within urban areas, where they readily benefit from feeding by humans.

Based on the assumption that ecophysiological responses affecting the status of mute swan populations are based on adaptive mechanisms in the human-altered trophic chain of the population (elevated heavy metal concentrations, disturbed elemental balance), we aimed to assess the levels of chemical elements in the soil of the birds' habitat and compare these results with metal contents in birds' feathers and biomarkers of lipid peroxidation (diene conjugates and middle-mass molecules). We also considered whether the location of the habitats of these birds as well as the age and sex of individuals influenced the bioaccumulation of elements.

The experiments were conducted following the Guidelines of the European Commission and the current laws in Poland and approved by the General Directorate for Environmental protection (Permission DOP-oz. 6401.03.278.2012.km). The study was conducted in Słupsk and the Gulf of Gdańsk on the southern Baltic coast on the municipal beaches of two neighboring cities of northern Poland, i.e. Sopot and Gdynia.

We analyzed two age groups: juvenile birds (before the third year of life) and adults (older than three years), as the mute swan starts to breed not earlier than in the third or fourth year of life (Coleman and Coleman, 2001). The group in Słupsk included 10 male juveniles, 12 male adults, 10 female juveniles, and 9 female adults. In Gdynia, 12 male juveniles, 18 male adults, 14 female juveniles, and 12 female adults were investigated. The group of birds from Sopot comprised 10 male juveniles, 17 male adults, 14 female juveniles, and 13 female adults. In total, samples of feathers and blood were collected from 151 birds.

All necessary biometric measurements were taken according to a methodology or standard procedures used in bird ringing stations and developed for studies of mute swans (Mathiasson, 2005). The birds were in good physiological condition, their body mass was 7.32–11.23 kg (females) and 7.92–11.96 kg (males), and no individual exhibited pathological conditions and diseases. A detailed description of the procedures carried out to evaluate the health and condition of the birds under study, their age and sex, as well as blood sampling for further biochemical tests to determine antioxidant status, have already been described by the authors in the paper (Kurhaluk and Tkachenko, 2021).

The concentrations of chemical elements were determined in the feather and soil samples with an X-Ray fluorescence (XRF) analyzer at the Department of Physics, Pomeranian University in Słupsk (Poland). The XRF analyzer (model Sci Sps X-200 from Sci Sps, Inc.) was used for the determination of the concentrations of chemical elements in the samples. The diene conjugate content was determined in plasma using a heptane-isopropanol mixture in an acidic medium (pH 2.0) as described elsewhere (Kamyshnikov, 2004). The concentration of middle-mass molecules in blood serum was determined spectrophotometrically as proposed by Kamyshnikov (2004) and expressed in units of optical density per L ( $U \cdot L^{-1}$ ).

Basic statistical analysis (analysis of variance for significance between the localities) of the metal content in the soils in the areas studied (Słupsk, Gdynia, and Sopot) different significantly, with statistical significance ( $p = 0.000$ ) for the following metals: Al, Si, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Zr, Rh, and Ru. This allows the classification of these localities as areas

with different levels of contamination. In the soil samples (g/kg) from Słupsk, compared to the values in Gdynia and Sopot, the levels of Al, Si, Ti, Mn, Fe, Cu, and Zn were statistically significantly different ( $p = 0.000$ ). The levels of Rh and Ru differed statistically significantly in the three studied areas. The level of Zr was statistically significantly different only in the samples from Gdynia and Sopot. It was noted that our study does not confirm the differences in the Ni, Pb, and Pd levels. Therefore, the analysis of metal contents in the soil from the mute swan habitats showed different results. Therefore, we suggested that there were alterations in the bioaccumulation of the metals in the organism of birds caused by migration processes.

Based on the hypothesis that the analyzed wintering population of the mute swan can change under the influence of such main factors as habitat, age, and sex, we determined metal concentrations based on the analysis of feathers of these birds. The use of multivariate significance tests of the main effects (type of environment, age, sex, and their combined effects) helped to determine statistically significant relationships for all three values. MANOVA with sigma-restricted parameterization of the effective hypothesis decomposition performed with the three-way method was used for the analysis of the metal contents in the feathers in the wintering mute swan population. Our data indicated the highest significant dependencies of such main effects as the environment ( $F = 44.73$ ,  $p = 0.000$ ) and its combination with the other main factors in the statistical model, i.e. age and sex ( $F = 32.20$ ,  $p = 0.000$  and  $F = 23.12$ ,  $p = 0.000$ , respectively). In decreasing order, the influence of the other main factors according to our statistical model is as follows: age ( $F = 28.0$ ,  $p = 0.000$ ) and sex ( $F = 25.96$ ,  $p = 0.000$ ), sex and age, and habitat and sex. Thus, the influence of the habitat on the distribution of metals in the feathers of birds is the most pronounced, although the age and sex of birds are equally important. Therefore, we divided our next studies on the metal content in the feathers into these three main groups of dependencies according to the results of this statistical analysis (Stanisz, 2006, 2007).

The primary products of peroxide oxidation of lipids (LPO) are lipid hydroperoxides consisting of diene conjugates (DC) accounting for a certain percentage. The LPO process develops further via a branched-out mechanism. The statistically significant dependencies in the MANOVA variance analysis regarding the age, sex, and habitat of the swans according to the level of diene conjugates shown in our study confirmed this concept ( $F_{11.139} = 61.99$ ,  $p = 0.000$ ). It should be noted that the level of diene conjugates differed significantly depending on the age in the same habitat, which can be seen in the juvenile and adult male swans, and between the male and female birds from Słupsk. We also confirmed the trend of different values of diene conjugates depending on the age and sex in the birds from the Gdynia, where we observed the highest levels of DC among the three investigated regions ( $60.86 \pm 10.06 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$  for juvenile males and  $122.27 \pm 17.16 \text{ nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$  for juvenile females). This may indicate pressure on the antioxidant defence system in young developing organisms in anthropopressure conditions, as no similar changes were found in the same groups in the other regions. It should be noted that the level of middle-mass molecules (MM) also differed significantly between the swans relative to their sex, age, and habitat. This is confirmed by the results of the MANOVA variance analysis ( $F_{11.139} = 50.80$ ,  $p = 0.000$ ) for the studied parameters. We showed a maximum level of MM in the birds from Słupsk ( $45.08 \pm 12.34 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and a minimum value in the adult females from Sopot ( $5.60 \pm 1.79 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

The current study of the impact of the sex indicated a statistically significantly higher content of Al and Ru in the juveniles, and only in the case of Al in the adult birds. Dietary organically complexed Al, probably in synergy with other contaminants, may be absorbed

easily and can interfere with important metabolic processes in mammals and birds. The mechanism of Al action is not known, although it is noted that Al competes with cations in biological systems, especially magnesium, cadmium, zinc, and iron (Seńczuk, 2006; Briffa et al., 2020). Al can interfere with biochemical reactions as well as cell functions that are important in mineralization processes. Al binds also irreversibly to cell nucleus components. The lungs, central nervous system, and bone seem to be the target of aluminum poisoning (Briffa et al., 2020). Particular attention should be paid to the statistically high values of correlations between the parameters of oxidative stress and Al in the juvenile birds: DC – Al ( $r = -0.48$ ,  $p = 0.000$ ), MM – Al ( $r = 0.26$ ,  $p = 0.026$ ), Zn – Al ( $r = -0.71$ ,  $p = 0.000$ ), Rh – Al ( $r = -0.64$ ,  $p = 0.000$ ), and Ru – Al ( $r = -0.46$ ,  $p = 0.000$ ).

Our current study focused on the determination of the concentrations of chemical elements in the soil of Słupsk, Gdynia, and Sopot in northern Poland and the feathers of wintering populations of the mute swan living in these areas. In this study, we examined three issues associated with the metal concentrations in the soil and feathers of mute swans living in areas with differing levels of anthropogenic pressure (urban agglomerations, recreational sea beach activity, and tourism). The analysis of variance showed significant differences in the levels of Al, Si, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Zr, Rh, and Ro between the soil samples from Słupsk and both Gdynia and Sopot, and in the Rh and Ro content between all studied areas. This allowed us to classify those areas as locations with different levels of chemical contamination.

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

**Kurhaluk N.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>1</sup>, Hetmański T.<sup>2</sup>, Włodarkiewicz A.<sup>3</sup>, Tomlin V.<sup>3</sup>**  
**OXIDATIVE STRESS IN SKELETAL MUSCLES AND CARDIAC TISSUE IN**  
**PIGEONS (*COLUMBA LIVIA F. URBANA*) LIVING IN ENVIRONMENTS WITH**  
**DIFFERENT LEVELS OF METAL BIOACCUMULATION (POMERANIAN REGION,**  
**NORTHERN POLAND)**

<sup>1</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland; Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

<sup>2</sup>*Department of Earth Sciences, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland;*

<sup>3</sup>*Department of Physics, Institute of Science and Technology, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*

Pigeons have been used as biomonitor species of organic- and non-organic-induced environmental pollution. Different internal organs of birds can be used for research, and eggs, feathers, or blood can be tested as well (Hoff Brait and Antoniosi Filho, 2011; Frantz et al., 2012; Pei et al., 2017). Investigation results have also shown that urban pigeons have several times higher levels of heavy metals accumulated in their tissues than domestic pigeons (Kouddane et al., 2016). González-Gómez and co-workers (2020) have assessed levels of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, polybrominated biphenyl ethers, organophosphate pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pyrethroids in body feather samples of feral pigeons observing the significant differences in age, location, and gender of birds. The pigeon is an almost ideal animal for monitoring a narrow range of environmental lead burdens (Drasch et al., 1987).

The current study aimed to assess the influence of varied environmental-induced stress on pigeons living in different contaminated areas (Szpęgawa and Słupsk, Pomeranian

Voivodeship, Northern Poland) on the oxidative parameters in the muscle tissue (intensity of lipid peroxidation, oxidatively modified proteins, total antioxidant capacity) and contents of heavy metals. The main goals of the study were to evaluate the relationship between heavy metals in the feathers and oxidative stress biomarkers in the muscle tissues (skeletal and cardiac) of pigeons.

The research was conducted in the Słupsk and Szpęgawa located in the Pomeranian Voivodeship, northern Poland. Słupsk (N 54°27' 57.681" E 17°1' 50.366") is a city with 90 thousand inhabitants located in the central part of Pomerania. Szpęgawa is a village located about 120 km east of Słupsk. The village includes farms located on agricultural land. For the study of suburban pigeons, a farm located at the point with coordinates N 54°05'44.4", E 18°43'15.7" was selected. It is an old farm established after World War II. To harden the ground on the farm, loose slag (trail), i.e. a waste material from metallurgical production, was brought in the 80s of the last century. The farm also houses the breeding of urban pigeons originating from the pigeon population from Słupsk. The colony was established in 2007-2008 to conduct a series of experimental studies, the results of which have been published (Hetmański, 2011).

Adult pigeons aged at least 1 year were the study material. The sex of the pigeons captured for the study was determined according to the type of gonads (presence of testes or ovaries) only after decapitation. Among the birds captured in Słupsk, there were 7 females and 10 males, and in the sample from Szpęgawa, there were 7 females and 7 males. Identification of the sex of pigeons based on the type of gonads is the best method, as sexual dimorphism is poorly visible in this species. Identification of the sex of live pigeons requires long-term observation of bird behavior. The mean body weight of the pigeons was  $(398.7 \pm 28.10)$  g in the Słupsk group ( $n = 17$ ) and  $(409.8 \pm 27.76)$  g ( $n = 14$ ) in the Szpęgawa sample. The pigeons from Szpęgawa were slightly heavier than those caught in Słupsk, but the difference was not statistically significant ( $p = 0.281$ ).

The concentrations of chemical elements were analyzed in the feather and soil samples with an X-Ray fluorescence (XRF) analyzer at the Department of Physics, Pomeranian University in Słupsk (Poland). The XRF analyzer, model Sci Sps X-200 from Sci Sps, Inc., was used to determination of the concentrations of chemical elements in the samples. The analyzer is constructed to study elements in different samples such as soil, alloys, precious metals, and some others. Tissue homogenates were used for the determination of the levels of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), oxidative modification of proteins (OMP), and total antioxidant capacity (TAC). The Bradford method (1976) with bovine serum albumin as a standard was used for the quantification of proteins.

The metal content in the soils in the areas studied differed significantly, i.e., a statistically significantly higher level of elements was observed in Szpęgawa compared to the results obtained from the Słupsk soil. This allowed us to classify this area as contaminated (Polluted area) since the level of metals except for Si, Ni, and Cu was statistically higher compared to the data from the Słupsk area. In the soil samples from Szpęgawa, the level of Al was higher by 121%, Ti – by 23%, Mn – by 242%, Fe – by 15.5%, and Pb – by 543.5% than in Słupsk (Non-polluted area). The lead level was fivefold higher in the soil from Szpęgawa. In the case of such metals as Zn, Zr, and Si, significantly higher levels were observed in Słupsk than in Szpęgawa.

The next stage of our research was to determine metal levels in the feathers of birds living in different areas. The content of elements in pigeon feathers was ambiguous. Pigeons from the polluted area had statistically significantly higher levels of Si and Pb in their

feathers as well as low levels of Fe, Cu, and Zn compared to those from the Słupsk area. The analysis of metal content in the soil and feathers of birds showed different results, but since the lead content in both soil and feathers was significantly higher, we suggested that there were alterations in the metabolism of birds caused by the pronounced lead accumulation. The current study demonstrated the impact of the environment with preferential high Pb contamination in soil and pigeon feathers collected in Szpęgawa village located near the A1 motorway on the formation of cumulative mechanisms of metals in the skeletal muscle and cardiac tissues of pigeons.

Lipid peroxidation reactions caused by reactive oxygen species (ROS) result in the formation of many degradation products. One of the final products of these processes, i.e. malonic dialdehyde, reacts with 2-thiobarbituric acid to form 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). MDA is currently the most commonly used lipid peroxidation marker; its level indicates pathological changes in the organism. Therefore, we decided to analyze its level in our study. The highest level of TBARS products in the skeletal and cardiac muscles in pigeons from the polluted (P) area compared with that from the non-polluted (NP) region was observed. Noteworthy, higher intensity of lipid peroxidation in the cardiac tissue than in the muscle tissue was detected.

Oxidative stress effects at Pb intoxication have harmful consequences on skeletal and cardiac muscle tissues, i.e. oxidation of highly reactive free radicals and potential protein damage. Therefore, we estimated the levels of protein carbonyl derivatives (aldehydic and ketonic derivatives, respectively) and TAC in the pigeon muscle tissues. Our results show a significant effect of Pb exposure in the two analyzed types of tissues. These changes were accompanied by an increase in the levels of oxidatively modified proteins. The current study revealed a tendency to decrease the TAC level in muscle tissues in both types. It is known that the ability to scavenge ROS in an organism can be assessed by TAC determination. The TAC indicator is frequently used to assess the antioxidant status of biological samples and can evaluate the antioxidant response against free radicals produced in a given disease (Rubio et al., 2016). In our study, the TAC level was decreased statistically in the birds from the polluted area (Szpęgawa village). It should be noted that the negative pollution-induced changes in the level of oxidatively modified proteins (151% for aldehydic derivatives and 132% for ketonic derivatives) and total antioxidant capacity (43% and 211% in the cardiac and muscle tissues, respectively) were more pronounced in the percentage ratio in the skeletal muscle tissue than in the cardiac tissue.

Therefore, metal-related oxidative stress in muscle tissue (skeletal muscle and cardiac tissues) is a complex of different biomolecular mechanisms involved in adaptive reactions in pigeons living in environments with different levels of metal bioaccumulation, as shown in the Pomerania region (northern Poland). The current study demonstrated the impact of the environment with preferential high Pb contamination in soil and pigeon feathers collected in Szpęgawa village located near the A1 motorway on the formation of adaptive redox mechanisms in the skeletal muscle and cardiac tissues of pigeons. The increase in the intensity of lipid peroxidation (estimated by the TBARS level) was accompanied by an increase in oxidative modifications of proteins (aldehydic and ketonic derivatives).

**Kurhaluk N.<sup>1</sup>, Tkachenko H.<sup>1</sup>, Kamiński P.<sup>2,3</sup>**

BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN THE MUSCLE TISSUE OF THE GREAT TIT (*PARUS MAJOR*) LIVING IN SODIUM INDUSTRY AND AGRICULTURAL AREAS IN INOWROCLAW REGION (CENTRAL PART OF NORTHERN POLAND)

<sup>1</sup>*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland; Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

<sup>2</sup>*Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Biochemistry, Department of Ecology and Environmental Protection, Bydgoszcz, Poland*

<sup>3</sup>*University of Zielona Góra, Faculty of Biological Sciences, Department of Biotechnology, Zielona Góra, Poland*

In ecotoxicological studies, birds are used as bioindicators to assess the potential effects of pollution (Kamiński et al., 2009; Groffen et al., 2020). The great tit (*Parus major*) is a wild bird species considered to be suitable for biomonitoring the degree of environmental pollution (Hargitai et al., 2016; Costa et al., 2017). As this species occurs throughout Poland, such biomonitoring studies facilitate the comparison of adverse effects of anthropopressure in habitats and ecosystems (Markowski et al., 2014; Koim-Puchowska et al., 2020). As a predatory bird species, tits can be used to determine the bioaccumulation and bioamplification of harmful substances in the trophic chain (Sánchez-Virosta et al., 2020). It is known that this species is also very sensitive to environmental changes. Studies show that chicks of different species of birds living in polluted environments differ in their ability to effectively eliminate heavy metals and organic pollutants (Williams et al., 2018; Vizuete et al., 2019; Sánchez-Virosta et al., 2019).

Our study aimed to perform a comparative analysis of the intensity of lipid and protein oxidation (2-thiobarbituric acid reactive substances, aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins) and total antioxidative status in skeletal muscle tissue of wild great tit (*Parus major*) nestlings in environments with different levels of anthropogenic pressure such as sodium industry and agriculture in the Inowrocław Ecological Hazard Region (central part of northern Poland).

Inowrocław County in the northern part of central Poland is called the Inowrocław Ecological Hazard Region. The Kuyavian salt deposits and salt dumps under hydrostatic pressure are widely used in resorts, health resorts, and sodium and salt industry. The salines are found in the vicinity of Ciechocinek, Włocławek, Słońsk, Aleksandrów Kujawski, Inowrocław, Janiszewo, and Solec Kujawski. Salt and sodium mining and processing have left their mark on the area of Kujawy to such an extent that significant degradation of the natural environment has occurred. The leading soda-salt producers are the Chemical Plant "Soda-Mątwy" in Inowrocław and Soda Plant "Janikosoda" in Janikowo. This industry supplies soda ash, precipitated carbonate, calcium chloride, and calcium dehydrate, simultaneously contributing to irreversible changes in the natural environment, i.e. pollution of atmospheric air, surface water, and soil degradation (*Development Strategy of Inowrocław County until 2020*, 2015).

The study samples were collected in the following towns and cities in the Inowrocław Region of Environmental Hazard (Kujawsko-Pomorskie Voivodeship, central part of northern Poland): Giebnia (52°46'36"N18°05'55"E), Janikowo (52°44'52"N18°06'47"E), Mątwy (52°45'18"N18°15'13"E), and Pakość (52°48'28"N18°05'25"E) (Inowrocław County). Control samples were collected from Tuchola Forest (Tuchola County, 53°35'14,1"N17°51'40,2"E) and Borkowo village (52°50'10"N 18°11'57"E). No direct sources of contamination were found in the Borkowo

area. The closest source that could contribute to contamination of the environment in this village is the Inowrocław Sodium Industry "Soda-Mątwy" located 100 km away and the national road No. 25. It is separated by trees and fields and runs within a radius of approx. 1 km from Tuchola Forest (Kamiński et al., 2012).

*Sodium Industry areas.* Samples were collected in industrially degraded areas, namely Giebnia, which is a small town in the commune of Pakość, and in the vicinity of the so-called "White Seas", i.e. ponds of post-sodium waste of Soda Works Industry "Janikosoda". The closed waste dump located here is the source of secondary soil and surface water pollution in the area. As the soil here is characterized by a compact mechanical composition, the migration of pollutants to the groundwater and the adjacent areas is difficult. This results in a high concentration of pollution in the soil and plants that grow in the area. In Giebnia, there is also an active Municipal Waste Disposal Site, where waste from the Pakość and Janikowo communes is stored (Kamiński et al., 2012; Kamiński et al., 2016; Koim-Puchowska et al., 2020).

The samples were also collected in Janikowo in the vicinity of sodium decanters and Soda Plants "Janikosoda". These plants produce, among others, light and heavy calcined soda, industrial, food, and iodine brewed salt, precipitated chalk, sodium lime, and others. The Soda Plant "Janikosoda" is located on a high plateau, whose soils are characterized by a compact mechanical composition. Due to this location, there is no distant penetration of saline soils. However, the soils in this area are much more contaminated than the soils of the surrounding villages. The factory borders the Notec Canal valley to the north, the Notec valley (53°05'48"N 17°21'30"E) to the south and east, and the Pakość Lake to the west (52°43'19"N 18°06'02"E).

*Agricultural areas.* The samples were collected from an area referred to as Mątwy, where a municipal waste disposal plant is located. Previously, post-sodium calcium ponds were located in this area and used by the Chemical Plant "Soda-Mątwy". Currently, industrial and hospital waste, which is a source of all kinds of elements migrating to the environment, is stored in the landfill in Mątwy. The second site was Mątwy town (near the Notec Canal). The samples were collected from an area in the neighborhood of the Notec Canal. Both the Notec Canal and the adjacent area are strongly influenced by the Chemical Plant "Soda Mątwy". The area above the canal is characterized by a slight slope of the surface and poor drainage of the organic soils prevailing here. It is related to their specific structure and the high level of groundwater; thus, the pollution can spread relatively quickly to nearby areas, especially to agricultural land and grassland located on the southern side of the Notec river valley (Kamiński et al., 2012; Kamiński et al., 2016; Koim-Puchowska et al., 2020).

The research involving animals was carried out in line with the Animals (Scientific Procedures) Act (1986)/EU Directive 2010/63/EU. The study was conducted with the consent of the Bioethics Committee of the General Nature Conservation Department (License permission of the General Nature Conservation Dept. Protocol number DOnOOŚogiz-4200/III-13/44/08/aj, Poland).

To implement the study, 145 nesting boxes for birds of great tits were installed. The research sites were divided in 2011 and 2012 (April-July) into three environments: 1) the control environment (Control): Borkowo,  $n = 41$ , 2) the landfill environment (Agricultural pressure): Giebnia, Mątwy near the waste dumps, and Pakość ( $n = 37$ ), and 3) the environment affected by the soda plants (Soda Activity Area): Janikowo and Mątwy near the Notec Canal ( $n = 37$ ). Nestlings were euthanised with isoflurane. The muscle tissue was collected from nestlings ( $n = 115$ ) in the 3<sup>rd</sup> age group, 15-21 days, with a fall in growth



rate. The muscle tissue was immediately dissected and placed on dry ice in Dewar flasks and transported to the laboratory. Skeletal muscle tissues from nestlings of great tits were used for the study. Skeletal muscles (*m. pectoralis*) were removed from the birds after decapitation. One bird was used for each preparation.

The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) with the Buege and Aust method (1978). The assay was performed based on spectrophotometric measurements of aldehydic (AD) and ketonic derivatives (KD) in the tissue samples. The rate of protein oxidative destruction was estimated from the reaction of the resultant carbonyl derivatives of amino acid with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNFH) as described by Levine et al. (1990) and modified by Dubinina et al. (1995). Total Antioxidant Status (TAS) was approximated using a 2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate] assay based on the absorbance of the ABTS<sup>+</sup> radical cation according to Miller et al. (1993).

The level of oxidative stress induced in the muscle tissues of the great tits depended on the localization. TBARS products were used as the final products of intensive lipid peroxidation and effective biomarkers of these changes in the first stage of our investigations. The statistical analysis of oxidative stress biomarkers obtained for the three types of environments showed significant differences between the species for the following data: TBARS level [ $F_{2,114} = 14.52, p = 0.000$ ], AD OMP [ $F_{2,114} = 1.69, p = 0.191$ ], KD OMP [ $F_{2,114} = 1.476, p = 0.233$ ] and TAS [ $F_{2,114} = 8.95, p = 0.000$ ]. A large level of reactive oxygen species (ROS) production and reduced effectiveness of antioxidant and proteolytic systems is accompanied by an accumulation of oxidized products.

The carbonyl groups formed by the oxidation of proteins are relatively chemically stable, allowing qualitative and quantitative determination of their damage (Stadtman and Levine, 2000). The correlation analysis of the relationship between oxidative stress biomarkers in the muscle tissue of great tits living in the control areas confirms this concept. We have found inverse correlative relationships between the levels of oxidatively modified proteins (OMP) formed as aldehydic and ketonic derivatives with the values of total antioxidative capacity (AD OMP and TAS,  $r = -0.459, p = 0.003$ ; KD OMP and TAS,  $r = -0.524, p = 0.000$ ). Oxidative protein damage, consisting of modification of amino acid residues, aggregation and/or fragmentation of the molecules, and oxidative modification of prosthetic enzyme groups, leads mainly to disturbance of the biological activity of cells. However, given all the important functions performed by proteins in any living organism, their modifications may lead to pathological reactions that can disrupt biological cell functioning (Levine and Stadtman, 2001).

The relevance of our research is that we chose an avian species as an efficient biological model to compare the effects of pollution-induced oxidative stress on the level of lysosomal destruction and oxygen-dependent energetic processes in different tissues. It should be noted that liver and kidney tissues are often used in studies where metabolic and toxic metal accumulation processes are maximally induced (Salamat et al., 2014; Nardiello et al., 2019; Vizquete et al., 2019). In turn, muscle tissue, especially skeletal muscles, can also be considered an effective adaptive biological model (Naccari et al., 2009; Plessl et al., 2017). The peculiarities of the physiological functioning of this tissue in conditions of acute exposure to a polluted environment represent exactly the approach used in our study.

The skeletal muscle is one of the tissues with a high level of metabolism, especially in birds (Bribiesca-Contreras et al., 2019; McNab, 2019). Destructive processes induced by oxygen radicals with the simultaneous decrease in the antioxidant capacity noted in this investigation can affect all important biostructures in the organism, causing damage at

different levels of cell organization. There are several novel findings in our study. Firstly, our study has demonstrated a general tendency towards an increase in the intensity of lipid peroxidation with increasing levels of oxidative modification of proteins (levels of aldehydic and ketonic derivatives) and a simultaneous reduction in the total antioxidative status (TAS). The differences we found are related to the fact that technogenic transformations change the environment of living organisms, changes which can lead to the development of oxidative stress in animals and humans. Hence, animals in this environment can be regarded as effective biomarkers of the level of its pollution. The presence of toxins in anthropogenically modified environments, as well as atmospheric pollution in these areas (intensive agricultural production or rubbish dumps, as in our case), are prerequisites for the activation of ROS formation or disturbances in the functioning of the antioxidant system in organisms that live in this environment.

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

**Liubas N.<sup>1</sup>, Terletska M.<sup>2</sup>, Bedrylo A.<sup>2</sup>, Iskra R.<sup>2</sup>, Lubenets V.<sup>3</sup>**

**ACTIVITIES OF CATALASE AND SUPEROXIDE DISMUTASE IN THE LIVER OF RATS UNDER THE THIOSULFONATE ESTERSACTION**

<sup>1</sup>*Institute of Animal Biology, NAAS*

*38, V. Stus St., Lviv, 79034, Ukraine*

<sup>2</sup>*Ivan Franko National University of Lviv*

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

<sup>3</sup>*Lviv Polytechnic National University*

*12, Stepana Bandery St., 12, Lviv, 79000, Ukraine*

*e-mail: n\_lubas@ukr.net*

Structural analogs of natural organic sulfur-containing compounds, such as allicin and alliin, which are contained in garlic and onion extracts and can exhibit antioxidant activity. These compounds are S-alkyl esters of thiosulfonic acids of the general formula R-S(O)2S-R': S-ethyl-4-aminobenzenethiosulfonate (ETS), S-allyl-4-aminobenzenethiosulfonate (ATS), S-allyl-4-acetylaminobenzenethiosulfonate (AATS).

The esters of thiosulfonates, synthesized at the department of Technology of biologically active compounds, pharmacy and biotechnology of the National University "Lviv Polytechnic" (Lubynets 2013) are characterized by a wide spectrum of biological activities, which often exceeds the effectiveness of structural natural analogues, and have also proven themselves as promising antimicrobial substances in in vitro experiments.

The purpose of our work was to evaluate the activity of the enzymatic link of the antioxidant system in the liver of rats under the action of thiosulfonates.

The research was carried out on male Wistar rats weighing 180-200 g, which were kept on a normal vivarium diet. At the first stage of the experiment, the animals were divided into 4 groups of 5 animals each: Group I – control, Group II, III, IV – experimental.

The animals of the control group were given 0.5 cm<sup>3</sup> of oil once a day to their diet;

Group II - 0.5 cm<sup>3</sup> of ETS oil solution, at a concentration of 100 mg/kg body weight;

Group III - 0.5 cm<sup>3</sup> of an oil solution of AATS at a concentration of 100 mg/kg body weight,

Group IV - 0.5 cm<sup>3</sup> of an oil solution of AATS at a concentration of 100 mg/kg body weight.

The experiment lasted 21 days. At the second stage of the experiment, the animals were also divided into 4 groups of 5 animals each: I group - control, II, III, IV -

experimental. Feeding took place in the same way as in the first stage, thiosulfonates were added to the feed at a concentration of 50 mg/kg of body weight - for 21 days. After decapitation of the animals, which was carried out under thiopental anesthesia, the liver was harvested. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were determined in rat liver homogenates. The obtained digital data were processed statistically using the Microsoft EXCEL program, using the one-way ANOVA method.

The results of the conducted studies demonstrated a tendency of an increase in superoxide dismutase and catalase activities in liver homogenates compared to the control group. Catalase activity increased by 21%, 10%, 8%, and SOD activity increased by 19%, 16%, and 6%, respectively in animals of II, III, and IV groups, which were fed with thiosulfonates at a concentration of 100 mg/kg. In experimental animals of groups II, III, IV, which consumed thiosulfonates at a concentration of 50 mg/kg with feed, catalase activity slightly differed from the control group (by 5%, 9%, 1.5%, respectively), while SOD activity increased by 32%, 59%, 47%, respectively, which indicates the stimulating effect of thiosulfonates in concentrations of 50 mg/kg and 100 mg/kg on the antioxidant system.

**Stefanowski N., Tkachenko H., Kurhaluk N.**

USE OF EXTRACTS DERIVED FROM GREATER CELANDINE (*CHELIDONIUM MAJUS* L.) IN ALTERATION OF OXIDATIVE STRESS IN MUSCLE TISSUE OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS* WALBAUM)

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Science, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

The plants of the Baltic coastal zone include medicinal plants with a wide range of uses. *Papaveraceae* is a family of vascular plants also found in the Baltic coastal area. Recent studies have reported that plants from this group have antioxidant properties, among others. Greater celandine, *Chelidonium majus* L. (CM) (*Papaveraceae*), is a valuable medicinal plant that is widely distributed in Europe and Asia and has also been introduced in Northern America. *C. majus* is a plant of great interest for its wide use in folk medicine and also in official phytotherapy. This species is known to synthesize a broad range of secondary metabolites which provide its therapeutic properties. The most common group of these secondary metabolites are isoquinoline alkaloids (1–2% in the herb and 2–4% in the roots), including chelidonine, berberine, sanguinarine, coptisine, chelerythrine, and protopine (Gilca et al., 2010; Zielińska et al., 2018). Besides, CM contains flavonoids, saponins, vitamins (e.g., vitamins A and C), mineral elements, sterols, and acids and their derivatives. Pharmacological properties ascribed to *C. majus* include anti-bacterial, anti-inflammatory, anti-viral, anti-fungal, antioxidant, and others (Gilca et al., 2010).

In the current study, a crude water extract from the greater celandine 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 muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) for determination and exemplify their further potential use as a drug against various diseases in medicine and veterinary.

Plant materials were harvested from natural habitats on the territory of the Kartuzy district (54°20'N 18°12'E) in the Pomeranian province (northern part of Poland). Plants were collected from urban (n = 5) and rural agglomerations (n = 15) on the territory of the Kartuzy district. The collected roots and stalks were brought into the laboratory for biochemical studies. Freshly washed samples of plants were 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 extract was 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 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 rpm for 15 min at 4°C. The supernatant of the muscle tissue was used to incubate with extracts derived from stalks and roots of CM (in a ratio of 19:1) at room temperature. The control samples (muscle tissue) were incubated with 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) (in a ratio of 19:1). The incubation time was 2 hours. Biomarkers of oxidative stress were studied in the incubated homogenates (control samples and in samples with extracts derived from stalks and roots of CM).

Lipid oxidation was evaluated by 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) according to the method described by Kamyshnikov (2004) with some modifications. 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). Carbonyl groups were determined spectrophotometrically from the difference in absorbance at 370 nm (aldehydic derivatives, OMP<sub>370</sub>) and 430 nm (ketonic derivatives, OMP<sub>430</sub>). The total antioxidant capacity (TAC) level in the samples was estimated by measuring the TBARS level after Tween 80 oxidation.

Statistical analysis of the data obtained was performed by employing the mean  $\pm$  S.E.M. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov and Lilliefors test ( $p > 0.05$ ). The significance of differences between the levels of oxidative stress biomarkers (significance level,  $p < 0.05$ ) was examined using the Kruskal–Wallis one-way analysis of variance. The data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) using Statistica software, version 13.3 (StatSoft, Poland).

When TBARS levels were analyzed in the muscle tissue of rainbow trout after *in vitro* incubation with aqueous extracts derived from roots and stalks of CM, very interesting results were observed. The highest statistically significant increase in biomarkers of lipid peroxidation after incubation of muscle tissue with extracts derived from both roots ( $232.56 \pm 2.64 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) and stalks ( $223.79 \pm 2.3 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) of CM collected from urban areas compared to the control samples ( $196.72 \pm 1.34 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) was noted. There was an increase in TBARS level by 18.6% ( $p < 0.05$ ) for root extracts and by 18.3% ( $p < 0.05$ ) for stalk extracts compared to the control samples. Similar results were observed when analyzing TBARS levels after incubation of muscle tissue with extracts derived from CM collected from rural agglomerations. A statistically significant change in the concentration of lipid peroxidation biomarkers after incubation of muscle tissue with extracts derived from both roots and stems [ $(223.97 \pm 1.45 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein})$  and  $(223.71 \pm 0.84 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein})$  for root and stalk extracts, respectively] of CM collected from urban areas compared to the control samples ( $196.72 \pm 1.34 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ). There was an increase in TBARS level by 13.8% ( $p < 0.05$ ) for root extracts and 13.6% ( $p < 0.05$ ) for stalk extracts compared to the control samples.

When we analyzed the levels of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins, no statistically significant changes were observed after *in vitro* incubation of rainbow trout muscle tissue with extracts derived from roots and stalks of CM collected from both urban and rural areas. Levels of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins were ( $13.25 \pm 0.33 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) for root extracts derived from CM collected

from urban agglomerations (increased by 5%,  $p > 0.05$ ), while for stalk extracts were ( $12.11 \pm 0.34 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ), which was decreased by 5.5% compared to the control samples ( $12.68 \pm 0.16 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ). Similar results were obtained for extracts of CM collected from rural agglomerations. The levels of aldehydic derivatives of oxidatively modified proteins were non-significantly increased by 2% ( $p > 0.05$ ) for root extracts ( $12.94 \pm 0.14 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ), while they were non-significantly decreased by 3% ( $p > 0.05$ ) for stalk extracts ( $12.54 \pm 0.13 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) compared to the control samples ( $12.65 \pm 0.16 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ).

Analyzing the levels of ketonic derivatives of oxidatively modified proteins, we noted a statistically significant increase only in levels of ketonic derivatives (by 25%,  $p < 0.05$ ) after *in vitro* incubation of muscle tissue with root extracts ( $15.51 \pm 1.3 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) derived from CM collected from urban areas compared to control samples ( $12.4 \pm 0.62 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ). A non-statistically significant decrease (by 16%,  $p > 0.05$ ) compared to the control samples was recorded after incubation with stalk extracts derived from CM collected in urban areas ( $10.4 \pm 0.94 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ). The level of ketonic derivatives of oxidatively modified proteins for extracts derived from roots of CM collected from rural agglomerations was ( $13.48 \pm 0.5 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ), which was increased by 9% ( $p > 0.05$ ), while those for extracts derived from stalks of CM was ( $11.52 \pm 0.55 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ) which was decreased by 7% compared to the control samples ( $12.4 \pm 0.62 \text{ nmol}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ).

The level of total antioxidant capacity (TAC) was significantly changed in the muscle tissue of trout incubated *in vitro* with extracts derived from roots and stalks of CM collected from rural agglomerations [(60.3  $\pm$  2.21 %) for roots extracts, (63.03  $\pm$  2.12 %) for stalks extracts) compared to untreated samples (67.07  $\pm$  1.16 %), root extracts were the only ones to show a statistically significant decrease in TAC level (by 10.1%,  $p < 0.05$ ). Similarly, TAC levels were altered in the muscle tissue of trout incubated with the extract derived from stalks and roots of CM collected from rural agglomerations [(65.85  $\pm$  1.6 %) for root extracts, (61.26  $\pm$  5.48 %) for stalk extracts) compared to untreated samples (67.07  $\pm$  1.16 %).

Thus, extracts derived from roots of CM collected from rural agglomerations caused a significant reduction in total antioxidant capacity after incubation with muscle tissue of rainbow trout *in vitro*. On the other hand, extracts derived from both stems and roots collected from urban and rural areas resulted in statistically significant elevation of TBARS levels, while root extracts enhanced protein oxidation in rainbow trout muscle tissue *in vitro*. In conclusion, the antioxidant and pro-oxidant mechanisms of the extracts derived from CM in trout tissues will be further studied in detail. The information obtained may be useful for the clinical use of plants in medicine, veterinary medicine, and intensive aquaculture farming. Finally, these results support the traditional use of CM for medicinal purposes.

**Tkachenko H., Kurhaluk N.**

EFFECT OF LEAD NITRATE ON THE LIPID HYDROPEROXIDE LEVELS IN  
DIFFERENT ORGANS OF MALE RATS

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in  
Słupsk, Słupsk, Poland  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Lead-induced oxidative stress contributes to the pathogenesis of lead poisoning by disrupting the delicate prooxidant and antioxidant balance that exists within mammalian cells (Lima-Hermes et al., 1991; Monteiro et al., 1995). Production of reactive oxygen species (ROS) is increased after lead treatment in *in vitro* studies. *In vivo* studies suggest

that lead exposure causes the generation of ROS and alteration of antioxidant defence systems in animals and occupationally exposed workers. The mechanisms for lead-induced oxidative stress include the effect of lead on the membrane, DNA, and antioxidant defense systems of cells. From low to high doses of lead exposure, there are different responses to lead-induced oxidative stress in various target sites including lung, blood vessels, testes, sperm, liver, and brain in epidemiological as well as animal studies (Hsu and Guo, 2002). Lead has been found to produce a wide range of toxic biochemical effects, besides behavioural dysfunction in man and experimental animals (Klassen, 1990). In the present investigation, an attempt has been made to study the effect of lead on the lipid peroxidation process in different organs of rats. We aimed to make clear whether lead could cause damage to membrane lipids in different organs of rats. In this study, the liver, heart, brain, kidney, and lung were used.

Male white rats (180-220 g) were used in the study. The animals (six per group) had free access to food and water throughout the experiments. All procedures were done by guidelines for the care and use of animals in scientific research. Rats were randomly assigned into two groups. Group 1 (untreated control,  $n = 6$ ) served as control and received a daily dose of sterile normal saline solution for 30 days through an oral route. Group 2 (Pb group,  $n = 6$ ) received daily 3.6 mg lead nitrate/kg body weight suspended in distilled water through an oral route. All drugs were freshly prepared. Tissues were removed from rats after decapitation. One rat was used for each homogenate preparation. Briefly, organs (liver, heart, kidney, brain, and lungs) were excised, weighed, and washed in the ice-cold buffer. The minced tissue was rinsed clear of blood with cold isolation buffer and homogenized in a glass Potter-Elvehjem homogenizing vessel with a motor-driven Teflon pestle on ice. The isolation buffer contained 120 mM KCl, 2 mM  $K_2CO_3$ , 10 mM HEPES, and 1 mM EGTA; a pH of 7.2 was adjusted with KOH.

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. Protein determinations were performed according to the method described by Bradford (1976). Results are expressed as mean  $\pm$  the standard error of the mean (S.E.M.). 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 control and lead groups, the Mann-Whitney U test was applied to the data (Zar, 1999). All statistical analyses were performed using STATISTICA 13.3 software (StatSoft, Krakow, Poland).

Results of the current study revealed that exposure of rats to lead nitrate caused to increase in TBARS levels in the liver by 71.5% ( $p < 0.05$ ) and 48.3% ( $p < 0.05$ ). In the heart, lead exposure resulted in an increase in TBARS level by 35% ( $p < 0.05$ ) in the rats with LR to hypoxia. TBARS level was higher in the kidney and brain tissues of the lead-exposed group with HR to hypoxia (by 45% and 94%,  $p < 0.05$ , respectively) compared to controls. Oxidative stress has been implicated to contribute to lead-associated tissue injury in the liver, kidney, brain, and other organs (Patra et al., 2001). Our study showed an increase in TBARS content in the liver, heart, kidney, and brain tissue of rats exposed to lead nitrate, suggesting an increase in lipid peroxidation in these tissues. These results are in agreement with the study undertaken by Patra and co-workers (2001), who recorded an increase in malonic dialdehyde (MDA) content in the liver and the brain of rats subjected to subchronic exposure to lead for a period of four weeks. Pagliara and co-workers (2003) showed that lead-induced liver hyperplasia was followed by apoptosis mediated by oxidative stress in Kupffer cells. The group exposed to lead nitrate recorded no changes in

TBARS content in the lungs compared to controls, suggesting that this may be due to the short duration of the lead exposure.

The liver is the primary organ site for xenobiotic metabolism. In most cases, the metabolic process is accomplished without injury to the liver itself, whereas many inorganic or organic lead compounds are toxic that can cause liver injury (Mudipalli, 2007). Accumulating evidence has shown that lead causes oxidative stress by inducing the generation of ROS, including hydroperoxides, singlet oxygen, hydrogen peroxide, and superoxide (Guilarte, 1997; Savolainen et al., 1998; Zhang et al., 2004; Sivaprasad et al., 2004; Jurczuk et al., 2007). ROS could cause damage to DNA, proteins, and lipids within cells, which resulted in tissue injury (Zhang et al., 2009). In toxic metal treated animals, histological changes in the liver, such as structure damage, hepatocellular necrosis, leukocyte infiltration, and massive hemorrhage, had been observed (Campana et al., 2003; Jihen et al., 2008; Liu et al., 2010).

Recent studies indicated that elevation in the levels of severe oxidative stress biomarkers could be observed in the liver of lead-treated rodents (Zhang et al., 2004; Sivaprasad et al., 2004; Jurczuk et al., 2007). MDA and lipid hydroperoxides are oxidative stress markers. Many studies reported that lead exposure induced an increase in MDA level in the liver (Ghosh et al., 2009; Bhatt and Flora, 2009; Vicente-Sánchez et al., 2008; Kebieche et al., 2009) and changes in the fatty acid composition of the membrane (Knowles and Donaldson, 1990). It was deduced that lead-induced arachidonic acid elongation might be due to the enhanced lipid peroxidation in the membrane because fatty acid chain length and unsaturation are associated with membrane susceptibility to peroxidation (Lawton and Donaldson, 1991). In our previous study, lead exposure led to a significant increase in TBARS levels in rats with high resistance to hypoxia indicating lead-induced hepatic and renal oxidative stress (Tkachenko and Kurhaluk, 2011; Tkachenko et al., 2014, 2016). In the present study, levels of TBARS were markedly increased in lead-treated rat tissues as compared with the controls, which indicated that lead exposure induced oxidative stress.

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

**Tkachenko H., Kurhaluk N.**

**DEVELOPMENTAL-INDUCED ALTERATIONS IN THE ANTIOXIDANT DEFENSE IN THE SKELETAL MUSCLES OF SEA TROUT (*SALMO TRUTTA M. TRUTTA L.*)**

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland*

*Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

The sea trout (*Salmo trutta m. trutta L.*) has especially high economic and social importance as a source for aquaculture, water management, recreational angling in both freshwater and seawater, as well as the main source of protein in the human diet (Pedersen et al., 2006; Dziewulska et al., 2008; Dal Bosco et al., 2013; Kurhaluk, 2019). Since the sea trout is an anadromous fish, impacts of the freshwater and seawater factors coexist (Debowski et al., 1999). Studies of the possibilities of the basic mechanisms for adaptation of the trout organism during freshwater and marine migration are still important. In contrast to research on the Atlantic salmon (Amundsen and Gabler, 2008), the basic mechanisms of oxidative stress, aerobic and anaerobic metabolic status caused by changes in the existing environments from freshwater to seawater and vice versa in sea trout populations are still unexplained. Thus, our study aimed to evaluate developmental-induced changes in the oxidative stress biomarkers, i.e. lipid peroxidation and antioxidant defences (superoxide

dismutase, catalase, glutathione reductase, and glutathione peroxidase) in the skeletal muscle growth in sea trout.

Ślupia river is one of the best-known anglers rivers of Middle Pomerania. The Ślupia river belongs to the coastal rivers. The whole of its basin lies in the area of the Pomeranian Voivodship (northern Poland). Ślupia has the character of a mountain river, its sources are located near Sierakowska Huta, 178 m above sea level. The middle course of the Ślupia river is located in the area of the Polanowska Upland, and the lower one is on the Damnica Upland, the Ślupsk Plain, and the Słowiński Coast. The river ends its course in Ustka city, entering the Baltic Sea. The analysis allowed us to present the quality of water in Ślupia in the area of Ślupsk city by the European standard EN ISO 8689-2 and the Water Framework Directive as the first class of purity (Obolewski, 2010).

The study material was sampled in the years 2008 - 2014 from 372 specimens of the sea trout in various developmental stages: parr (n = 113), smolts (n = 122), adults (n = 25, i.e. 13 males, 12 females), spawners (n = 113, i.e. 33 males, 53 females), and kelts (n = 24, i.e. 12 males, 12 females). The trout specimens in the parr and smolt developmental stages were caught in Pomeranian rivers: Glazna, Skotawa, Kamienna, and Kwacza near Ślupsk city. Among the adults, spawners, and kelt forms, the sexual dimorphism is well-expressed; the analysis was carried out according to the sex since the phenotypic males and females possessed testicular and ovarian structures. We have analyzed various stages of fish development those the changes in the neurohormonal levels determining sex were expressed (testicular and ovarian structures, eggs). We have investigated the complex of morphological parameters of fish (mean body mass, mean body length) and aging according to Jensen and Johansen (2011).

Adult specimens of the sea trout were caught in the estuary of the Ślupia river (Ustka city, 54°35'N 16°51'E), while the sexually mature spawners and kelts (males and females) were caught in the Ślupia river (Ślupsk city, Pomeranian Voivodship, northern Poland; 54°27'57"N 17°1'45"E). The fish was collected using the electric fishing method, with the help of a power generator with a DC adapter, in close cooperation with the Landscape Park "Dolina Ślupia" and the District Board of the Polish Angling Association in Ślupsk (environmental license DROS.AR.MW.6052-16/10).

Percussion stunning followed by the destruction of the brain was used for fish euthanasia. The tissues were sampled for analysis. Tissue samples were taken, frozen, and homogenized in the laboratory of the Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Ślupsk. The authors are grateful to the authority of Landscape Park "Dolina Ślupia" and the District Board of the Polish Angling Association in Ślupsk for providing logistic support for collecting the samples.

The trout muscle tissue samples were homogenized in ice-cold buffer (100 mM Tris-HCl, pH 7.2). Superoxide dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1) activity was assessed by its ability to dismutate superoxide produced during quercetin auto-oxidation in an alkaline medium (pH 10.0) by Kostiuk and co-workers (1990) method. Activity is expressed in units of SOD per mg of tissue protein. Catalase (CAT, E.C. 1.11.1.6) activity was determined by measuring the decrease of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the reaction mixture using a spectrophotometer at the wavelength of 410 nm by the method of Koroliuk and co-workers (1988). Glutathione reductase (GR, EC 1.8.1.7) activity was determined according to the colorimetric method by Glatzle and co-workers (1974). Glutathione peroxidase (GPx, EC 1.11.1.9) activity was determined by detecting the non-enzymatic utilization of GSH (the reacting substrate) at an



absorbance of 412 nm after incubation with 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) according to by the method of Moin (1986).

The results were expressed as mean  $\pm$  S.D. All variables were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test ( $p > 0.05$ ). The homogeneity of variance was assessed using Levene's test. The significance of differences in the parameters' value, and between all studied groups was determined using one-way analysis of variance (ANOVA) and multifactorial analysis of variance (MANOVA). For unequal observations, Tukey's post-test was used (Zar, 1999). Statistical analysis was carried out in a double way: biomarkers of oxidative stress were compared with those in each developmental stage of the sea trout, while metabolism biomarkers were analyzed separately. The combined effect of sex and developmental stages, as well as its significance (main effects), was compared with the data of the oxidative stress and biochemical parameters separately. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

In the current study, the enzyme activities are associated with the first and second antioxidant defense lines, namely SOD and CAT. The highest SOD activity was observed for the smolts, males, and females of the adult group, and both males and females of the kelt group. CAT activity ( $F_{7,364} = 5.05$ ,  $P = 0.000$ ) exhibited a similar trend to SOD, i.e. a tendency to decrease in the adult stage with subsequent restoration of enzyme activity with the age and the development stages. We have also observed that the enzyme activities in the muscle tissue associated with glutathione metabolism, i.e. GR ( $F_{7,364} = 20.94$ ,  $P = 0.000$ ) and GPx ( $F_{7,364} = 141.54$ ,  $P = 0.000$ ).

The highest activity of GR was observed for the parr and smolt development stages with a subsequent distinct tendency to decrease in a statistically significant manner in the males and females of smolt and spawner developmental stages, as well as the kelts. GPx activity has shown an opposite trend to GR activity. GPx had both an age-related and developmental-related tendency to increase its activity. It was noted that the reduced GPx activity in the parrs, smolts and adults was statistical significantly increased in both males and females of spawners and kelt forms.

Four different MANOVA tests confirmed the influence of the main factors, both the sex and developmental stage, and a combination of these factors, on the formation of antioxidant defense in the muscle tissue of sea trout. The SS test allowed us to draw the following conclusions on the role of each analyzed parameter in the formation of the integral model. These dependencies are presented as follows: TBARS  $>$  GPx  $>$  SOD  $>$  CAT  $>$  GR. Such dependencies indicated the role of the GPx, SOD, and TBARS, used as effective biomarkers of oxidative stress.

Thus, glutathione peroxidase in the muscle tissue plays a leading role among the four antioxidant enzymes (SOD, CAT, GR, and GPx) in the different stages of trout development. Oxidative stress has induced transformations in the functioning of the cellular energy system generally characterized by a decrease in the succinic dehydrogenase activity and an increase in lactate dehydrogenase activity, i.e. the key enzymes of aerobic- and anaerobic-related metabolism in the liver and muscles. Similar metabolic alterations in these organs (muscles, liver) often proceed via reversible processes of energy metabolism, as energy is usually acquired in aerobic pathways in the liver and anaerobic pathways in muscles (Hochachka and Somero, 2002).

Thus, the current study revealed the impact of the sex and different development stages of the sea trout (parr, smolts, spawners, adults, and the kelt stage) on the effective formation of adaptive oxygen-dependent mechanisms. Results of our study revealed a two-fold higher TBARS level, and a lipid peroxidation level, in the muscle tissue of spawners

and kelts compared to the first three stages of trout development (parr, smolts, and adults). A stable developmental-related tendency towards an increase in lipid peroxidation in the muscle tissue was observed. Glutathione peroxidase in the muscle tissue plays a leading role in the different stages of trout development.

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

**Tkachenko H., Kurhaluk N.**

**BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN VARIOUS TISSUES OF  
FURUNCULOSIS-AFFECTED SEA TROUT (*SALMO TRUTTA* M. *TRUTTA* L.) FROM  
THE BALTIC SEA BASIN**

*Department of Biology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in  
Słupsk, Słupsk, Poland;  
Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk, Poland*

Furunculosis induced by motile aeromonads is a problem in the farming of salmonids (brown and rainbow trout) and various other fish species in the Europe during last years. Motile aeromonads cause diverse pathological conditions that include acute, chronic, and covert infections (Cipriano and Austin, 2011). The severity of the disease is influenced by a number of interrelated factors, including bacterial virulence, the kind and degree of stress exerted on a population of fish, the physiological condition of the host, and the degree of genetic resistance inherent within specific populations. Motile aeromonads differ interspecifically and intraspecifically in their relative pathogenicity or their ability to cause disease. Pathological conditions attributed to members of the motile aeromonad complex may include dermal ulceration, tail or fin rot, ocular ulcerations, erythrodermatitis, hemorrhagic rot disease, and scale protrusion disease (Cipriano and Austin, 2011).

The current study aimed to examine the responses of oxidative stress biomarkers in the various tissue (muscles, gills, liver, heart, milt/spawn) from healthy specimens of sea trout (*Salmo trutta* m. *trutta* L.) and naturally furunculosis-affected trout sampled from the Słupia river belonging to the Baltic sea basin where adult specimens are spawning (northern Poland, Central Pomeranian region). Oxidative stress biomarkers (2-thiobarbituric acid reactive substances as lipid peroxidation biomarkers, aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins) and total antioxidant capacity (TAC) in the various tissue of healthy and furunculosis-affected trout were assayed.

Adult sea trout (*Salmo trutta* m. *trutta* L.), 3-5 years of age, were collected from sites on the Słupia river (Słupsk, northern Poland). Fish-catching took place in exact co-operation with Landscape Park “The valley of Słupia” as well as the Board of Polish Angling Relationship in Słupsk. The sampling for analysis from healthy males and females (control group), as well as females of sea trout affected by furunculosis (study group), was collected directly after the catch. After catching, microbiological tests were carried out. These tests suggested that the *Aeromonas hydrophila* complex caused furunculosis. The pathogen was isolated from the infected sea trout. Specimens in each group were dissected. One fish was used for each preparation. Each sample was homogenized in cold Tris-HCl buffer (100 mM, pH 7.2) to obtain a 10% (w/v) tissue homogenate. The protein content of each sample was determined using the Bradford method (1976) and bovine serum albumin as the standard.

Lipid peroxidation level was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) according to Kamyshnikov (2004). 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 (DNFH) as described by Levine et al. (1990) and as modified by Dubinina et al. (1995). DNPH was used for determining the carbonyl content in soluble and insoluble proteins. The TAC level in the sample was estimated spectrophotometrically at 532 nm following the method with Tween 80 oxidation (Galaktionova et al., 1998).

The mean  $\pm$  S.E.M. values were calculated for each group to determine the significance of the inter-group differences. To assess the differences between the studied groups, the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance by ranks test was used (significance level,  $p < 0.05$ ). Correlations between parameters at the set significance level ( $p < 0.05$ ) were determined by the regression method. Interactions were established by the Spearman ranks (Zar, 1999). All statistical calculation was performed on separate data from each individual with STATISTICA version 13.3 (StatSoft, Poland).

Disturbance of the balance between the production of reactive oxygen species (ROS) such as superoxide, hydrogen peroxide, hypochlorous acid, hydroxyl, alkoxy, and peroxy radicals and antioxidant defenses against them produces oxidative stress, which amplifies tissue damage by releasing prooxidative forms of reactive iron that can drive Fenton chemistry and lipid peroxidation and by eroding protective sacrificial antioxidants (Gutteridge, 1995). TBARS levels were significantly higher in the muscle tissues (by 8.87%,  $p = 0.001$ ), gills (by 37.72%,  $p = 0.01$ ), and liver (by 139.15%,  $p = 0.000$ ) of males with furunculosis compared to control group (healthy specimens). Decreased TBARS level in milt to  $(282.2 \pm 41.37)$  nmol/mg protein in males with furunculosis against  $(756.31 \pm 85.67)$  nmol/mg protein in healthy trout was found. Decreased TBARS level in the gills (by 45.5%,  $p = 0.005$ ) and increased TBARS level in spawn (by 179%,  $p = 0.031$ ) of infected females compared to healthy females was noted.

The oxidative modification of proteins by reactive species is implicated in the etiology or progression of a panoply of disorders and diseases (Levine, 2002). Furunculosis induces an increase of aldehydic derivatives of OMP in the muscle tissue (by 60.45%,  $p = 0.005$ ), in the liver (by 54.82%,  $p = 0.002$ ), and in the heart (by 99.4%,  $p = 0.040$ ) of infected males, as well as their increase in the muscle tissue (by 126%,  $p = 0.000$ ), liver (by 59.4%,  $p = 0.000$ ), and heart (by 65.43%,  $p = 0.000$ ) of infected females compared to healthy specimens. Moreover, significantly higher levels of aldehydic derivatives of OMP in gills (by 93.8%,  $p = 0.006$ ) and lower in the milt (by 67.6%,  $p = 0.040$ ) in infected males compared to those females were found. The ketonic derivatives of protein oxidation in the muscle, gills, and liver of males with furunculosis were significantly higher by 62.67% ( $p = 0.000$ ), 90.1% ( $p = 0.005$ ), and 48.05% ( $p = 0.000$ ), respectively, than in values obtained from healthy males. Similar increasing the ketonic derivatives of protein oxidation in the muscle (by 78.4%,  $p = 0.000$ ), liver (by 24.6%,  $p = 0.002$ ), and heart (by 48.7%,  $p = 0.001$ ) of infected females compared to healthy females was noted. A significantly higher level of aldehydic derivatives of OMP in the liver (by 24.5%,  $p = 0.002$ ) of furunculosis-affected males compared to those females was found. A significantly higher level of ketonic derivatives (by 14.5%,  $p = 0.007$ ) was in the cardiac tissue of infected females compared to those males.

Regarding the total antioxidant capacity, furunculosis significantly decreased TAC levels by 30% ( $p = 0.001$ ) in the liver, by 47% ( $p = 0.000$ ) in the heart, and by 39% ( $p = 0.006$ ) in the milt of furunculosis-affected males, as well as by 20% ( $p = 0.040$ ) in the liver of those females as compared to the healthy specimens. TAC level was significantly higher (by 64%,  $p = 0.006$ ) in the heart of furunculosis-affected females compared to those males.

Skin ulcers can have many different etiologies, including infectious agents, toxins, physical causes, immunologic causes, and nutritional and metabolic perturbations (Law, 2001). Lesions in fish are associated with a variety of organisms including parasites and bacterial, viral, and fungal infectious agents. In addition, trauma, suboptimal water quality, and other abiotic stress factors may result in the loss of homeostasis (Kane et al., 2000). In recent years, skin ulcer epidemics have been either experimentally or epidemiologically linked to exposure to a number of xenobiotic chemicals as well as biotoxins. Some of these agents have led to serious concerns about the health of aquatic ecosystems (Noga, 2000). Not only does skin damage occur via direct contact with toxins, but it may also be induced indirectly by physiological changes that result from exposure not only to toxins but also to other environmental stressors, such as pH and temperature extremes. The multifactorial pathways that operate at the ecological and the organism levels as well as the nonspecific response of the skin to insults make it very challenging to link epidemic skin ulcers to any single cause in natural aquatic populations (Noga, 2000).

In conclusion, in both males and females, biomarkers of lipid peroxidation and protein damage in the various tissue of furunculosis-affected trout showed higher values as compared to healthy trout. Increased lipid peroxidation was observed in the muscle tissue, gills, hepatic tissue, and milt of furunculosis-affected males. Aldehydic and ketonic derivatives of oxidatively modified proteins were higher in the muscle, cardiac and hepatic tissue, milt, and spawn of furunculosis-affected males and females. Total antioxidant capacity was decreased, especially in hepatic and cardiac tissues of furunculosis-affected males and females. This study encourages efforts to extend the knowledge of oxidative stress biomarkers for the identification of *Aeromonas*-induced disorders and specific responses of fish typical of furunculosis in salmonids.

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

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

**VIABILITY OF PANCREATIC ACINAR CELLS UNDER THE INFLUENCE OF AMINO ACIDS IN HIGH CONCENTRATION**

*Ivan Franko National University of Lviv*

*Hrushevskiyi Str., 4, 79005 Lviv, Ukraine*

*e-mail: vvmanko@lnu.edu.ua*

Parenchymal necrosis is a major complication of pancreatitis, and a greater amount of necrosis is associated with a worse prognosis. It is interesting that the severity of pancreatitis in animal models is directly correlated with the degree of necrosis and, inversely, with apoptosis. High doses of basic amino acids are widely used in animal models of acute pancreatitis. Given the incomplete understanding of the amino acid mechanisms of action on the pancreas, we investigated the effect of amino acids in high concentrations on the viability of acinar cells.

Experiments were conducted on male Wistar rats weighing 250–300 g. A suspension of isolated pancreatic acini was obtained using collagenase. Viable pancreatic acinar cells were incubated in a CO<sub>2</sub>-incubator at 37 °C for 24 h. DMEM medium with glucose (10 mM) without pyruvate and glutamine was used as a control. In the experiments, amino acids (Ala, Arg, Lys, Asp, Glu, Asn, Gln, His) at a concentration of 20 mM were added to this medium. Fluorescence analysis was performed at 2, 4, and 24 h of incubation using an Olympus IX73 microscope and a DP-74 camera. Hoechst 33342 was used to stain the nuclei of living and dead cells. Cells were stained with ethidium bromide for additional

confirmation of necrosis. Apoptosis was determined by nuclear chromatin compaction in the early stages and nuclear fragmentation in the late stage. Fluorescence intensity was analyzed using ImageJ software. The probability of changes was determined by Student's t-test. DNA of acinar cells was isolated after 24 h of incubation using guanidinium thiocyanate. DNA fragmentation was determined using agarose gel electrophoresis.

It turned out that in 2 h of incubation in the control 11% of pancreatic acinar cells died by necrosis, and the level of apoptosis was  $< 0,5\%$ . The addition of the studied amino acids to the incubation medium had no statistically significant effect on cell viability or apoptotic processes. After 4 hours of incubation, the number of necrotic cells in the control was 12%. Amino acids on the background of glucose did not affect the processes of necrosis, compared to glucose. Under the influence of alanine on the background of glucose, the number of cells in the early and late phase of apoptosis increased by 70% ( $P=0,03$ ) and 219% ( $P=0,03$ ), respectively, compared to the influence of glucose. The percentage of cells in the early stage of apoptosis statistically significantly increased under the influence of lysine by 94% ( $P<0,001$ ) and asparagine – by 65% ( $P=0,05$ ), compared to the control. The presence of aspartic acid and histidine in the medium increased the number of cells in the late stage of apoptosis by 208% ( $P=0,01$ ) and 274% ( $P=0,02$ ), respectively, compared to the influence of glucose.

At 24 h of incubation, 25% of pancreatic acinar cells of rats died by necrosis in the control. Addition of asparagine, aspartic and glutamic acid to the incubation medium caused an increase in the number of necrotic cells to 43% ( $P<0,01$ ), 42% ( $P<0,001$ ) and 34% ( $P<0,01$ ), respectively. Arginine, lysine, and glutamine after long-term incubation (24 h) led to necrotic death of 100% of the cells. The use of the DNA electrophoresis in agarose gel confirmed DNA fragmentation according to the necrotic type. The most intense DNA fragmentation was observed under the influence of arginine, lysine and glutamine.

Therefore, among the studied amino acids, glutamine, arginine and lysine have the most toxic effect, which may be related to the high content of amino groups in these amino acids. The role of glutamine in the development of necrosis in acute pancreatitis should be investigated in more detail.

## ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН PLANT PHYSIOLOGY

**Базюк С., Кобылецька М.**

ДОДАВАННЯ РІДКОГО ПОЖИВАННОГО СЕРЕДОВИЩА ЯК ЕФЕКТИВНИЙ  
МЕТОД ІНДУКЦІЇ РОСТОВИХ ПРОЦЕСІВ ПРИ МІКРОКЛОНАЛЬНОМУ  
РОЗМНОЖЕННІ ЧЕРЕШНІ *IN VITRO*

*Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна  
e-mail: stasbazyuk@gmail.com*

**Baziuk S., Kobyletska M.** ADDITION OF LIQUID NUTRIENT MEDIUM AS AN EFFECTIVE METHOD OF GROWTH PROCESSES INDUCTION IN MICROCLONAL PROPAGATION OF SWEET CHERRY ROOTSTOCKS IN VITRO. The effect of adding liquid nutrient medium (Quorin & Lepoivre - QL) with gibberellic acid (GA3) at three concentrations (0,5 mg / l, 1,0 mg / l and 1,5 mg / l) when added in the third week of cultivation was studied on the medium for multiplication, and subsequent cultivation for two weeks of *in vitro* shoots of sweet cherry rootstocks Gisela 5 and Gisela 6. It was shown that the addition of 5 ml of liquid nutrient medium with 1 mg / l GA3 was the most effective, with a high number of shoots obtained for further multiplication, in the case of GA3 - 1.5 mg / l increased the number of shoots with necrotic manifestations and signs of hyperhydration (vitrification), such shoots are unsuitable for further rooting or multiplication. It is believed that the reason for this was the increase in humidity in the container with plants, and the high concentration of GA3.

Черешня сортів Gisela 5 і Gisela 6 (*Prunus cerasus* x *Prunus canescens*) є доволі важливими сортами рослин-підщеп в умовах клімату і ґрунтових характеристик України. Загальними особливостями даних сортів є характерна низькорослість і здатність входити в стадію плодоношення на рік раніше від інших сортів. Сорт Gisella 5 сприятлива до глинистих ґрунтів, морозостійка завдяки чому підходить для вирощування в центральній і західній частині України. Gisela 6 сприятлива до суглинчастих ґрунтів і клімату центральної та південної України.

Метою дослідження було покращення ростових показників при інтенсивному мікроклональному розмноженні даних сортів черешні шляхом додавання рідкого поживного середовища в ємності з рослинами на третьому тижні культивування. Середовище яке використовувалось містило наступний склад: базове середовище – QL (Quorin & Lepoivre) з додаванням бензо-аміно пурину (БАП) 0,5 мг/л, метатополіну (МТ) 0,5 мг/л, індоліл-3-масляної кислоти (ІМК) 0,1 мг/л, сахарози 20 г/л і агару 5,5 г/л. рН – 5,95. Для приготування рідкого поживного середовища використовувалось аналогічне базове середовище без додавання агару з додаванням гібереллової кислоти (ГК3) у трьох концентраціях (0,5, 1,0, 1,5 мг/л). Експланти при висадці були розміром 1-1,5 см з 3-5 листками, зачищені від калюсу та клітин сумнівної проліферації. Рідке поживне середовище вносили за допомогою стерильної скляної піпетки у кількості 5 мл на ємність об'ємом 400 мл, діаметром 6,5 см і висотою 12 см. Після додавання рідкого поживного середовища, рослини культивувались додатково протягом двох тижнів, при температурі 22±1 °С, фотоперіоді 16 годин, для освітлення використовувались світлодіодні лампи (3000 люксів) холодного білого світла. В контрольні зразки рідке поживне середовище не

додавалось. Після завершення культивуваці аналізували наступні показники: довжина пагона, кількість пагонів, кратність множення, відсоток контамінованих рослин, відсоток пагонів з некротичними проявами та ознаками вітрифікації.

Одержані результати свідчать, про збільшення ростових показників експлантів в які додавалось рідке середовище, збільшення довжини пагонів і їх кількості у експлантів обох сортів і кратності множення. Показано, що додавання 5 мл рідкого поживного середовища з 1 мг/л ГКЗ виявилось найбільш ефективним з високою кількістю отриманих пагонів для подальшого клонального розмноження. У варіанті з ГКЗ - 1,5 мг/л спостерігали збільшення кількості пагонів з некротичними проявами та з ознаками гіпергідратації (вітрифікації), такі пагони є непридатними для клонального розмноження, вважається, що причиною цього було збільшення рівня вологості в ємності з експлантатами, та висока концентрація ГКЗ.

**Бойко А., Романюк Н.**

**ЛІКАРСЬКІ РОСЛИНИ ЯК ДЖЕРЕЛО ПРОТИВІРУСНИХ СПОЛУК**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: annaboiko0708@gmail.com*

**Boyko A., Romanyuk N. MEDICINAL PLANTS AS A SOURCE OF ANTIVIRAL COMPOUNDS.** Today, the most common causes of diseases are viral infections, which pose a great threat to humanity. Medicinal products of plant origin have a long history of use in the treatment of respiratory infections. Plants are a source of biologically active substances, such as flavonoids, tannins, alkaloids, terpenoids, essential oils and saponins, which exhibit inhibitory effects against various types of viruses, in particular against SARS-CoV-2. The aim of the work was to evaluate the antiviral properties of plants, characteristics of their biochemical composition and mechanisms that allow resistance to viral diseases.

Побічні ефекти традиційних препаратів і зростання резистентності до них спонукали до пошуку природних противірусних препаратів рослинного походження. Фітопрепарати безпечніші, дешевші та менш токсичні порівняно із синтетичними препаратами – в цьому, на думку багатьох, їх основна перевага. (Akrametal., 2018). Застосування лікарських рослин у формі порошків із листя, відварів, настоїв та паст проти вірусних інфекцій людини (гепатиту С, герпесу, грипу) відоме здавна.

Противірусну дію мають численні вторинні метаболіти рослин, зокрема флавоноїди (рутин, несперидин, кверцетин, кемпферол та апігенін), таніни, терпеноїди, алкалоїди, ефірні олії, сапоніни (Лебеда та ін., 1992; Mani, 2020). Їхня активність призводить до інгібування приєднання та проникнення вірусу, інгібування вірусної РНК і синтезу білка, інгібування активності ключових вірусних ензимів, а також інші механізми, зокрема, пригнічення вірусу з клітини та посилення імунітету господаря (Remali, Aizat, 2021).

Флавоноїди є основною частиною противірусних засобів, що пригнічують ензиматичну активність, зокрема ксантинооксидазну,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазну, циклооксигеназну, ліпоксигеназну та альдозоредуктазну (Wenzeletal., 2001). Вони здатні перешкоджати проникненню вірусу в клітину, блокуючи клітинні рецептори, а також перешкоджають його реплікації та трансляції (Mani et al., 2020). Зокрема, кверцетин функціонує як інгібітор вірусної 3-хімотрипсин-подібної протеази (3CLpro), яка розщеплює великі поліпептиди на менші білки і забезпечує поширення

вірусної інфекції. Доведено вплив кверцетину на активність папаїн-подібної протеази (PLpro) (Park, et al. 2017).

Ефективність танінів обумовлена їхньою здатністю постійно необоротно зв'язуватися з білками капсиду, суперкапсиду, зі специфічними вірусними ензимами, необхідними для реплікації вірусу, або з новосинтезованими вірусними білками, і перешкоджати їхньому розмноженню (Vilhelmova-Ilieva et al., 2021).

Нещодавні дослідження показали, що терпеноїди знижують важкість перебігу захворювання SARS, перериваючи синтез РНК, і таким чином перешкоджаючи проникненню вірусу в здорові клітини.

Особливу антисептичну та дезінфікуючу роль виявляють ефірні олії. Ефірна олія легко взаємодіє з фосфоліпідами подвійного шару клітинної мембрани, порушуючи вірусну оболонку, таким чином не дозволяє прикріплюватись до клітини-хазяїна. Доведена інгібіторна дія ефірних олій проти багатьох РНК-вмісних вірусів, зокрема проти SARS-CoV-2 (Das et al., 2021).

Таким чином, рослини можуть слугувати хорошим джерелом противірусних засобів завдяки наявності в їхніх тканинах широкого спектру біологічно активних метаболітів. Актуальним залишається пошук локальних видів рослин, перспективних для отримання відповідної лікарської сировини.

**Качмар О., Кобылецька М.**

**РОЛЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ФОРМУВАННІ АДАПТИВНОЇ  
ВІДПОВІДІ РОСЛИН ПРИ ЗАСОЛЕННІ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e-mail: kachmarolga.2017@gmail.com*

**Kachmar O., Kobyletska M.** THE ROLE OF FREE RADICAL PROCESSES IN FORMING THE ADAPTIVE RESPONSE OF PLANTS TO SALINITY. The study of molecular mechanisms of plant resistance to environmental stress is one of the most important problems in modern experimental plant biology. One of the key reactions of plants to the action of environmental stressors is the content of phytohormones, which cancels the necessary function in growth, morphogenetic and adaptive processes. Salicylic acid (SA), which is an endogenous phytohormone involved in the formation of plant resistance to biotic and abiotic stressors, should be used for such compounds. Metabolic adjustments caused by SA are important for the adaptation of plants to further stress. In response to various stress effects in plant cells, there is an increase in MDA content, which is associated with the activation of free radical reactions under these conditions. Thus, the content of MDA can serve as an indicator of the activity of oxidation processes caused by oxygen radicals.

Засолення ґрунтів є одним з найпоширеніших природних факторів, який істотно знижує врожайність зернових культур у всьому світі. Широкий спектр фізіологічних і біохімічних змін рослин викликаний засоленням, спричинює зниження водного потенціалу в ґрунтовому розчині, змінює іонну рівновагу, індукує специфічні іонні ефекти та збільшення нагромадження активних форм оксигену (АФО) (Kamran, 2020). АФО посідають особливе місце серед стресових метаболітів (Колупаєв, 2010). Дослідження молекулярних механізмів стійкості рослин до стресових впливів навколишнього середовища є однією з найважливіших проблем у сучасній експериментальній біології рослин. Ключовою реакцією рослин на дію



стресових факторів довкілля є зміна вмісту фітогормонів, які відіграють важливу функцію в ростових, морфогенетичних і адаптивних процесах. До таких сполук належить саліцилова кислота (СК), яка будучи ендogenousним фітогормоном, бере участь у формуванні стійкості рослин до біотичних та абіотичних стресорів. Встановлено, що СК впливає на генерування АФО, активність ферментів антиоксидантної системи. Важливе значення для адаптації рослин до подальших стресових навантажень мають перебудови метаболізму, зумовлені СК. (Маменко та ін., 2010).

Тому метою нашої роботи було дослідити кількість малонового диальдегіду (МДА) у тканинах пшениці та проаналізувати його вплив на рослинний організм за дії засолення та саліцилової кислоти. Об'єктом дослідження була пшениця. Попередньо насіння замочували у воді (контроль) та розчині саліцилової кислоти (0,05 мМ) (дослід) упродовж трьох годин, потім пророщували за загальноприйнятою методикою в термостаті. На 3-тю добу проростки пересаджували в горщики перлітом. Рослини поливали водними розчинами NaCl (0,1 М; 0,22 М), у контрольні варіанти вносили поживний розчин Кнопа. Морфометричні показники визначали за стандартними методами. Вміст МДА визначали спектрофотометрично. Усі експерименти здійснювали у трикратній повторності.

Із збільшенням концентрації NaCl у субстраті значно сповільнюється швидкість росту коренів та пагонів досліджуваних рослин щодо контролю. Найнижчі показники були зафіксовані у групі проростків, де для замочування використовували воду, а для поливу – 0,22 М водний розчин NaCl. Сповільнення росту пагонів за умов сольового стресу може бути спричинене багатьма факторами. Наприклад, сповільненням росту і поділу клітин меристеми через інгібування їхнього метаболізму і зміни у структурі клітинної стінки (Fan, 2004) У відповідь на різні стресові впливи у клітинах рослин відбувається збільшення вмісту МДА, що пов'язано з активацією вільнорадикальних реакцій. Таким чином, вміст МДА може слугувати показником активності окислювальних процесів, зумовлених кисневими радикалами (Панас, 2006) .Саме тому ми дослідили як змінюється вміст МДА у рослин пшениці за дії засолення. Найвищий вміст МДА спостерігався в пагонах пшениці у дослідній групі рослин, для замочування насіння яких використовували дистиллят, а для поливу - 0,22 М водний розчин NaCl на фазі 1 листка. Встановлена пряма залежність між концентрацією NaCl і вмістом МДА у тканинах рослин. Концентрація МДА несуттєво змінювалася на всіх фазах росту у дослідній групі рослин, для замочування насіння яких використовували СК, а для поливу 0,1 М водний розчин NaCl. При застосуванні СК кількість МДА була менша щодо контролю.

Отже, на основі результатів проведених досліджень, можна зробити висновок, що СК позитивно впливає на метаболізм рослин за умов сольового стресу, зменшуючи утворення МДА. СК має стреспротекторну дію на рослини за цих умов.

**Шевчук О., Величко О., Пацула О.**

**ВИКОРИСТАННЯ ВЗАЄМОДІЇ З ГРИБОМ *TUBERMELANOSPORUM* ДЛЯ  
ОПТИМІЗАЦІЇ РОСТОВИХ ПРОЦЕСІВ РОСЛИН ОГІРКІВ І ТОМАТІВ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

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

*e- mail: olga26schewthyk@ukr.net*

**Shevchuk O., Velychko O., Patsula O. USE OF THE INTERACTION WITH THE  
TUBER MELANOSPORUM FUNGUS FOR OPTIMIZING THE GROWTH PROCESSES  
OF CUCUMBER AND TOMATO PLANTS. A positive effect of mycorrhization by the  
fungus *Tuber melanosporum* on the initial stages of growth of cucumber and tomato plants**

was established. At the same time, mycorrhization of *T. melanosporum* had a positive effect on the area of the assimilation surface of the studied plants, as well as an increase in the content of photosynthetic pigments of cucumber and tomato plants, the analysis of the of dry matter mass of cucumber and tomato plants showed that the effect of mycorrhization by the *T. melanosporum* fungus on the initial stages of plant growth was positive.

Гострою проблемою сьогодення є забезпечення населення сільськогосподарською продукцією, і зокрема – рослинною. Виробники постійно шукають шляхів підвищення врожайності основних сільськогосподарських культур. Основний шлях підвищення їхньої врожайності – внесення у ґрунт мінеральних елементів, але, по-перше, це дорого, а по-друге, з мінеральними добривами у ґрунт вносяться забруднюючі речовини. Доброю альтернативою тут може бути перехід на органічні технології, застосування яких забезпечує не лише підвищення продуктивності рослин, але й оберігає екосистеми, поліпшує їхню структуру. Як варіант такої технології розглядаємо оптимізацію ростових процесів рослин за рахунок формування мікоризи, бо взаємодія з грибами є вигідною як для рослин на усіх етапах їхнього онтогенезу, так і для біогеоценозу загалом.

З цією метою досліджували можливість формування мікоризи та її вплив на ростові процеси овочевих культур – рослин огірків та томатів. У якості мікобіонту обрано гриб трюфель чорний (*Tuber melanosporum* Vittadini, 1831). У роботі досліджували довжину коренів, кількість бічних коренів та висоту пагонів рослин огірків та томатів на початкових етапах онтогенезу за умов мікоризації *T. melanosporum*. Визначали площу асиміляційної поверхні та вміст фотосинтетичних пігментів рослин огірків та томатів на початкових етапах онтогенезу за умов мікоризації *T. melanosporum*. У роботі визначали масу сухої речовини рослин огірків та томатів на початкових етапах онтогенезу за умов мікоризації *T. melanosporum*.

Для мікоризації грибом *Tuber melanosporum* використовували добриво «Міковітал». Готували розведення вихідного розчину 1/10. Підготовлений розчин вносили у чашки Петрі на фільтрувальний папір. У чашки Петрі з розчином, який містив *T. melanosporum*, поміщали попередньо простерилізовані насінини огірків сорту «Фенікс» та томатів сорту «Беталюкс». Чашки з мікоризованим та немікоризованим насінням залишали на 12 годин у термостаті за температури 24°C. Ґрунт перед посівом насіння стерилізували, щоб позбутися ґрунтової мікробіоти (ґрунт не містив нематод). Для цього його прожарювали у сушильній шафі за температури 200 °C упродовж 3 годин (Акулов, 2012). Ростові параметри рослин визначали морфометрично, визначення площі асиміляційної поверхні листкових пластинок здійснювали відносним ваговим методом (Романюк та ін., 2005). Маса сухої речовини, визначали методом висушування рослинного матеріалу (Романюк та ін., 2005). Вміст пігментів фотосинтезу визначали спектрофотометрично (Романюк та ін., 2005)

Встановлено позитивний вплив мікоризації грибом *T. melanosporum* на початкові етапи росту рослин огірків і томатів. Водночас мікоризація *T. melanosporum* позитивно впливала на площу асиміляційної поверхні досліджуваних рослин, а також на збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів рослин огірків і томатів; аналіз маси сухої речовини рослин огірків і томатів показав, що вплив мікоризації грибом *T. melanosporum* на початкові етапи росту рослин був позитивним.

## АВТОРСЬКИЙ ПОКАЖЧИК INDEX OF AUTHORS

	<b>А</b>		
Андрейко В.	21	Гольцев А.	120, 123
Андрейчук Р.	42	Гончаренко В.	48, 52
Арсенюк Б.	10	Горбулінська С.	66
Ачкасов Д.	43	Горінь М.	58, 60
	<b>Б</b>	Гринчишин Н.	112
Бабенко Н.	123	Грицишин Д.	16
Бабійчук А.	94	Грінченко С.	45
Бабський А.	10		<b>Д</b>
Багрійчук К.	58	Данило І.	103
Базюк С.	166	Джура Н.	75
Бандура Ю.	22	Дмитрук О.	107
Боднар Л.	63	Долженко Ю.	122
Боднарчук Н.	19	Дорошенко О.	90
Бойко А.	167	Драч Ю.	79, 82
Борецька І.	75, 76	Дубрава Т.	123
Бондаренко М.	51	Дуда О.	106
Бондарович М.	123		<b>Є</b>
Бродяк І.	95	Єфіменко Н.	24
Бугрин М.	23		<b>Ж</b>
Бура М.	11	Жукровська К.-О.	61
	<b>В</b>		<b>З</b>
Введенський Д.	120	Заболотня А.	46, 54
Величко О.	169	Зазуля А.	96
Войтик А.	121	Заіченко О.	11
Войтович М.	101	Звір Г.	109, 112
Волкова Н.	120	Згонник М.	47
Волкотруб К.	44	Зинь А.	14
Волошин І.	95	Зубова О.	94
Воробець Н.	108	Зубов П.	94
	<b>Г</b>		<b>І</b>
Гаєвська Ю.	123	Іккерт О.	121
Гайдучок О.	77	Ільків М.	10
Галушка А.	104, 106, 107	Іскра Р.	124
Гарасим Н.	14, 19		<b>К</b>
Гачкова Г.	23, 28	Канюка О.	22
Гембара М.	102	Капітанець С.	24
Генега А.	12, 13, 17, 18	Капрусь І.	78, 83, 85
Герцик Д.	22	Кармаш О.	24
Гіжецька О.	24	Катульська І.	12, 13, 17
Гнатуш С.	101, 102, 103, 104, 109, 110, 111	Качмар О.	168
Гоголь О.	11	Качмар Н.	104
		Кашуба Х.	48

<b>К</b>		<b>О</b>	
Кирдій Е.	106	Одінцова А.	42, 56
Кирилів У.	107	Олексюк К.	63
Кісельова Г.	123	Омелюх Б.	10
Кобилецька М.	166, 168	Останков М.	123
Ковцун П.	96	Осташ І.	58, 65
Комплікевич С.	101, 103, 109	Островський Р.	52
Котик Б.	124		
Кравчик Г.	59	<b>П</b>	
Красій М.	25	Пацула О.	169
Кузеляк Х.	108	Пелех В.	64
Кульчицька А.	12, 13, 17	Передерій Д.	125
Кухтій Ю.	14	Перетятко Т.	101, 106
		Петрин Т.	26
		Пилипів А.	79
		Пожджук В.	77, 80
		Політило О.	101
		Полотнянко Л.	81
		Притула С.	82
		<b>Р</b>	
		Рисенко Г.	18
		Ребець Ю.	65
		Романюк Н.	167
		Романюк О.	76
		<b>С</b>	
		Сабадашка М.	25, 27
		Савінкова В.	84
		Савчак О.	83
		Семків М.	96
		Сибірна Н.	21, 22, 23, 24, 26, 27, 28
		Сидорко Я.	65
		Скобель Н.	53
		Скубіш І.	66
		Сокіл Л.	120
		Сорочинська Х.	58
		Стасик О.	97
		Стасик О.	97
		Стасюк О.	48
		Степанюк Л.	120
		Стецюк В.	27
		Стойка Р.	18
		<b>Т</b>	
		Тарновська А.	12, 13, 16, 17
		Теклішин Д.	112
		Ткачук М.	58
		Ткачук М.-М.	67

	<b>Ф</b>		<b>А</b>
Фаюра Л.	95	Achkasov D.	43
Федоренко В.	61	Andreiko V.	21
Фінюк Н.	18	Andreychuk R.	42
Фуртак Х.	28	Apetsko A.	29
	<b>Х</b>	Arseniuk B.	10
Ханик Ю.	112		<b>В</b>
Харькова О.	54	Babenko N.	123
Химин О.	85	Babijchuk A.	94
Хміль І.	19	Babsky A.	10
	<b>Ц</b>	Bahriichuk K.	58
Цвілинюк О.	77, 80	Bandura Y.	22
	<b>Ч</b>	Barkhatova A.	69
Чала Д.	25, 27	Baziuk S.	166
Чернищенко Л.	120	Bedrylo A.	154
Чуйкова М.	49	Binda E.	73
	<b>Ш</b>	Bodnar L.	63
Шалай Я.	10, 11	Bodnarchuk N.	19
Шевчук О.	169	Bondarenko M.	51
Шимончук Т.	110	Bondarovych M.	123
Шмигельська С.	67	Boretska I.	75, 76
	<b>Ю</b>	Boyko A.	167
Юзьвак Х.	56	Brodyak I.	36, 95
Юзик М.	55	Buhryn M.	23
Юшин І.	18	Bura M.	11
Ющук О.	61	Buyun L.	116, 126, 129, 131, 133
	<b>Я</b>	<b>С</b>	
Яворська Г.	102, 108, 110, 111	Chala D.	25, 27, 30
Ямпольська К.	123	Chernyshenko L.	120
Ячна М.	29	Chuykova M.	49
Яценко А.	68		

	<b>D</b>		<b>I</b>
Danylo I.	103	Ikkert O.	121
Dmytruk O.	99, 107	Ilkiv M.	10
Dolzhenko Yu.	122	Iskra R.	124, 154
Doroshenko O.	90	Ivanova Y.	126, 129
Drach Yu.	79, 82	Ivasechko I.	99
Duban R.	70		<b>J</b>
Dubrava T.	123	Jarosiewicz A.	87
Duda O.	106		<b>K</b>
Dzhura N.	75	Kachmar N.	104
	<b>F</b>	Kachmar O.	168
Faggio C.	33	Kachor A.	71
Faiura L.	95	Kalinowski J.	70, 72
Fedorenko V.	61, 69, 70, 72, 73	Kamiński P.	151
Fedorovych D.	118	Kanetska A.	114
Finiuk N.	18, 99	Kaniuka O.	22
Furtak K.	28	Kapitanets S.	24
	<b>G</b>	Kaprus I.	78, 83, 85
Gaevska Yu.	123	Karmash O.	24, 30
Geffard A.	34, 35	Kashuba Kh.	48
Gnatyshyna L.	33, 34, 35	Kasiyan O.	135
Gogol O.	11	Katafiasz J.	137
Goltsev A.	120, 123	Katulska I.	12, 13, 17
Gorbulinska S.	66	Kharkova O.	54
Grynchyshyn N.	112	Khmil I.	19
Gyrenko O.	126, 129, 131, 133	Khoma V.	33, 34, 35
	<b>H</b>	Khanyk Yu.	112
Hachkova H.	23, 28	Kisielova H.	123
Haiduchok O.	77	Khymyn O.	85
Halushka A.	104, 106, 107	Klyuchivska O.	99
Harasym N.	14, 19	Kobyletska M.	166, 168
Heneha A.	12, 13, 14, 18	Komplikevych S.	101, 103, 109, 114, 115
Hembara M.	102	Koshla O.	69
Hertsyk D.	22	Kotyk B.	124
Hetmański T.	145, 148	Kovalska L.	126, 129
Hizhetska O.	24	Kovtsun P.	96
Hnatush S.	101, 102, 103, 104, 109, 110, 111, 114, 115	Krasij M.	25
Holub N.	59, 64	Kravchyk H.	59
Honcharenko V.	48, 52, 116	Kudelina O.	86
Horin M.	58, 60	Kucharska A.	36
Hrinchenko S.	45	Kuhtii J.	14
Hrytsyshyn D.	16	Kulishko N.	115

	<b>K</b>		<b>N</b>
Kurhaluk N.	31, 38, 116, 126, 129, 131, 133, 135, 137, 138, 140, 143, 145, 148, 151, 155, 157, 159, 162	Nagalievska M.	24, 26
Kuzeliak K.	108	Nazaruk K.	90
Kylchytska A.	12, 13, 17	Nejluk M.	110, 111
Kyrdii E.	106	Ney Y.	12, 13
Kyryliv U.	107	Nishtuk Y.	97
	<b>L</b>	Novgorodsky A.	51
Lan V.	60		<b>O</b>
Lesiv K.	91	Odintsova A.	42, 56
Lesyk R.	18, 99	Olexuk K.	53
Liubas N.	154	Omeliukh B.	10
Liuta M.	21, 24	Orlova-Hudim K.	33, 35
Lubenets V.	154	Ostankov M.	123
Lubińska L.	38	Ostash I.	58, 65, 71
Lyubchukova D.	68	Ostrovskiy R.	52
	<b>M</b>	Opryshko M.	131, 133
Mamchur Z.	79, 82, 84		<b>P</b>
Manenko A.	135	Palos-Ladeiro M.	34, 35
Manko B.	121, 164	Patsula O.	169
Manko N.	99, 164	Pelekh V.	64
Marinelli F.	61, 72, 73	Pekala-Safińska A.	115
Markiv O.	109	Perederiy D.	125
Markovska O.	92	Peretyatko T.	36, 101, 106
Martyniuk V.	33, 34, 35	Petryn T.	26
Maslovska O.	101, 103, 109, 114, 115	Politylo O.	101
Matiytsiv N.	58, 60, 67	Polotnyanko L.	81
Matskiv T.	33, 34, 35	Pozhodzhuk V.	77, 80
Maysak V.	49	Prokopiv A.	116
Melevych Y.	110, 111	Prytula S.	82
Melnychuk M.	112		
Melnyk M.	61	Pylypiv A.	79
Melnyk V.	114		<b>R</b>
Meniv N.	104	Rebets Y.	65, 71
Moroz A.	36, 101, 102, 110, 111	Romanyuk N.	167
Moysiyenko I.	53	Romanyuk O.	76
Mudra O.	98	Rysenko H.	18
Muzyka Y.	16		<b>S</b>
Mykhalchak N.	99	Sabadashka M.	25, 27, 30, 37
Mykiievych I.	77	Savcak O.	83
Mytsak O.	78	Savinkova V.	84
		Serikova M.	71
		Semkiv M.	96
		Shalai Ya.	10, 11
		Shevchuk O.	169
		Skobel N.	53
		Skrynnyk H-Y.	37

	<b>S</b>		<b>W</b>
Skubish I.	66	Włodarkiewicz A.	145, 148
Shelinhovskyi D.	86		<b>Y</b>
Shmyhelska S.	67	Yachna M.	29
Shymonchuk T.	110	Yampolska K.	123
Soborova O.	86	Yashchenko A.	68
Sokil L.	120	Yavorska H.	102, 108, 110, 111, 118
Sorochynska Kh.	58	Yefimenko N.	24
Stasiuk O.	48	Yunko K.	33, 34, 35
Stasyk O. G.	97, 98	Yurchenko S.	135
Stasyk O. V.	97, 98	Yushchuk O.	61, 69, 70, 71, 73
Stefanowski N.	38, 155	Yushyn I.	18, 99
Stepaniuk L.	120	Yuzvak K.,	56
Stepanyshyn A.	69, 70, 72	Yuzyk M.	55
Stetsiuk V.	27		<b>Z</b>
Stoika R.	18, 99	Zabolotnia A.	46, 54
Stoliar O.	33, 34, 35	Zaichenko O.	11
Sybirna N.	21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 36, 37, 99	Zazulya A.	95
	<b>T</b>	Zghonnyk M.	47
Tarnovska A.	12, 13, 16, 17	Zhukrovska K.-O.	61, 70, 73
Teklishyn D.	112	Zub A.	164
Terletska M.	154	Zubova O.	94
Tiupova T.	131, 133	Zubov P.	94
Tkachenko H.	31, 38, 116, 126, 129, 131, 133, 135, 137, 138, 140, 143, 145, 148, 151, 155, 157, 159, 162	Zvir G.	109, 112
Tkachuk M.	58	Zyn A.	14
Tkachuk M.-M.	67		
Tomin V.	145, 148		
Tsupko N.	41		
Tsvilynyuk O.	77, 80		
	<b>V</b>		
Vlasiuk Y.	118		
Velychko O.	169		
Voitovych M.	101		
Voityk A.	121		
Volkotrub K.	44		
Volkova N.,	120		
Voloshyn I.	95		
Vorobets N.	108		
Vvedenskyi D.	120		



Наукове видання

**Молодь і поступ біології**

Тези доповідей

XVIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів  
присвячена 195-річчю від дня народження Юліуса Планера

6–7 жовтня 2022 р., м. Львів

Редактор – **О. Штапенко**

Комп'ютерна верстка – В. Демчук

Відповідальний за випуск – **В. Сирватка**

**Youth and Progress of Biology**

Abstracts

of XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students  
dedicated to the 195<sup>th</sup> anniversary from the birthday of prof. Julius Planer

October 6–7, 2022, Lviv, Ukraine

Editor – **O. Shtapenko**

Page proof – **V. Demchuk**

Responsible for the publication – **V. Syrvatka**

Підписано до друку 06.10.2022. Формат 60x84/16.

Папір офсет. Гарнітура Times New Roman. Ум. друк. арк. 10,35.

Наклад 80 прим. Зам. № 22/10.

Видавництво „Сполом”, 79008 Україна, м. Львів, вул. Краківська, 9

Тел./факс (380-32) 297-55-47, E-mail: [spolom\\_lviv@ukr.net](mailto:spolom_lviv@ukr.net)

Свідоцтво суб'єкта видавничої діяльності:

серія ДК, № 2038 від 02.02.2005 р.

Друк ФОП Корпан Б.І.

Львівська обл., Пустомитівський р-н., с. Давидів, вул. Чорновола, 18

E-mail: [bkorpan@ukr.net](mailto:bkorpan@ukr.net), тел. (093) 480-6141

Код ІНДРФО 1948318017, Свідоцтво фізичної особи-підприємця:

В02 № 635667 від 13.09.2007

