

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА**

Гагут Анна Миколаївна



УДК 574:[597.8+598.162]

**ЕКОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОНОВИХ ГІГРОФІЛЬНИХ
ВИДІВ ГЕРПЕТОФАУНИ ПІВНІЧНО-СТЕПОВОГО ПРИДНІПРОВ'Я**

03.00.16 – екологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дніпро – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Дніпровському національному університеті імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України, м. Дніпро

Науковий керівник:

кандидат біологічних наук, доцент

Гасо Віктор Якович

Дніпровський національний університет імені
Олеся Гончара, НДІ біології, провідний
науковий співробітник

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор

Шабанов Дмитро Андрійович

Харківський національний університет імені
В. Н. Каразіна, кафедра зоології та екології
тварин, професор

кандидат біологічних наук, старший науковий
співробітник

Решетило Остап Степанович

Львівський національний університет
імені Івана Франка, кафедра зоології, доцент

Захист відбудеться «14» квітня 2021 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 08.051.04 для захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара за адресою: 49010, м. Дніпро, пр. Гагаріна, 72 корпус 17, біолого-екологічний факультет, ауд. 711.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України за адресою: 49010, м. Дніпро, вул. Казакова, 8.

Автореферат розісланий «12» березня 2021 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради, кандидат біологічних
наук, доцент



А. О. Дубина

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У сучасних умовах практично всі екосистеми зазнають несприятливого впливу, обумовленого глобальною антропогенною дією на біосферу. У зв'язку з цим існує постійна необхідність в розробці оперативних систем оцінки її стану, сприятливості для живих організмів.

Зміни у біосистемах проявляються на різних рівнях ієрархії: від молекулярного (зміни біохімічних процесів) до популяційного рівня і біотичного. Всі ефекти в біосистемі починаються саме з хімічних взаємодій на молекулярному рівні. Для оцінки якісних і кількісних параметрів стану навколишнього середовища сучасні програми біологічного моніторингу розширюють використання різних біомаркерів. Для найбільш раннього виявлення негативного впливу ефективними є біохімічні та молекулярні маркери. Вони відображають зміни стану на самих ранніх етапах (Peakall, 2012, Amiard-Triquet et al., 2013).

Північна степова підзона України наразі значно трансформована. Степове Придніпров'я зазнало серйозних втрат біологічного та ландшафтного різноманіття (Червона книга, 2011). Це зумовлює необхідність постійних екологічних досліджень у цьому регіоні.

Значне хімічне забруднення північно-степового Придніпров'я обумовлено хімічною та металургійною промисловістю та інтенсивним сільським господарством. Промислові скиди у води р. Дніпро приводять до збільшення концентрацій важких металів та органічних забруднювачів, що у кілька разів можуть перевищувати фонові значення (Скляренко, Бессонова, 2015; Кроїк, Дорганова, 2016). Загальний обсяг скинутих рідких стічних вод складає у середньому 243,8 млн м³. У м. Дніпро надзвичайно велику частку шкідливих речовин вносить Придніпровська ТЕС, приймачем теплообмінних зворотних вод якої є р. Дніпро (Кроїк, Пацкова, 2011; Bilyaev, Rusakova, 2016). ПАТ «Запорізький металургійний комбінат «Запоріжсталь» скидає у р. Дніпро майже 54 млн. м³ стічних вод, з них більше 4 млн. м³ – без очистки (Непша, Гришко, 2020).

Життєздатність популяцій залежить від впливу різних чинників середовища та пов'язана з внутрішньою просторовою структурою (Царик, 2007). Важлива характеристика існування популяції, особливо у хребетних – її можливості переміщення у просторі (Решетило, 2013). За умов зменшення чисельності у популяції виробляються фізіологічні та етологічні захисні механізми, що дозволяють їй існувати у певних межах дії несприятливих (лімітувальних) факторів (Шилова, Шатуновский, 2005). На території України вуж звичайний *N. natrix* (Linnaeus, 1758) та вуж водяний *N. tessellata* (Laurenti, 1768) є екологічно пластичними та за відповідних умов ландшафту і наявності кормової бази здатні зберігати стабільні популяції навіть у разі антропогенного навантаження на екосистеми. Як наслідок, в окремих популяціях вужів виникають екологічні, фізіолого-біохімічні та морфологічні особливості (Göçmen et al., 2011; Gaebele et al., 2013; Weiperth et al., 2014). Озерна жаба *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) також розповсюджений вид, розселення якого зумовлене наявністю придатних

для проживання водойм, у тому числі антропогенно трансформованих екосистем (Булахов та ін., 2007; Файзулин, 2010, Фоминых и др., 2010). Озерна жаба, звичайний та водяний вужі є фоновими видами герпетфауни для степового Придніпров'я, які топічно завжди пов'язаний з водними екосистемами (Булахов та ін., 2007; Gasso, 2011).

Види, які зустрічаються майже в усіх типах водойм та прибережних екосистемах, характеризуються незначними добовими міграціями можна використовувати як тест-об'єкти для біомоніторингу навколишнього середовища (Knotkova, 2002).

Відомо, що організм пристосовується до токсичної дії чужорідних речовин, використовуючи для цього певні механізми дезінтоксикації. Хімічні екоотоксиканти піддаються біотрансформації найчастіше з утворенням менш токсичних сполук. Величезний потік хімічних речовин, тривале напруження захисних біотрансформаційних механізмів захисту може з часом привести до зриву компенсаторних процесів у клітинах і розвитку патологічних змін. Біохімічні показники крові характеризують стан організму на більш пізньому етапі інтоксикації, але можуть бути використані як прижиттєві біомаркери впливу антропогенного забруднення не тільки на організм в цілому, а й на конкретні тканини та органи (Raphael et al., 1994; Dickinson et al., 2002; Lopez-Olvera et al., 2003).

В умовах екологічного стресу виникає окислювальний стрес, який вважається одним з головних індукторів структурно-функціональних порушень у клітинах нервової системи. Основну роль у захисті нервової тканини від ушкоджень відіграють астрогліальні клітини. Головним структурним компонентом астроцитарного цитоскелета є гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ). ГФКБ розглядається як надійний біомаркер стану астроцитів, що реагує на пошкоджувальні фактори посиленням синтезу ГФКБ та інтенсивним фібрилогенезом. Попередні результати надають докази успішного застосування нейроспецифічних білків для оцінки шкідливого впливу важких металів, іонів алюмінію та суміші промислових забруднювачів (Недзвецкий и др., 2011; Novitsky et al., 2014; Sukharenko et al., 2017).

Оцінка стану гліального цитоскелету жаб і вужів в умовах промислового забруднення – новий напрям екоотоксикологічних досліджень, що зумовлює актуальність та новизну даної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана як частина державних науково-дослідних робіт Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара: «Зоогенні механізми екосистемних сервісів та розробка екологічних принципів їх збереження і відновлення», № 0115U002382; «Екологічні основи зоопертинентного впливу тварин на процеси оптимізації природних і порушених екосистем в умовах сучасного природокористування», 0117U001207; «Розробка та впровадження інноваційної методики молекулярно-генетичної біоіндикації пестицидного навантаження», № 0120U102258. У всіх НДР здобувач – виконавець.

Мета та завдання дослідження. Метою дослідження є визначення еколого-біохімічних особливостей фонових гігрофільних видів герпетофауни північно-степового Придніпров'я в умовах антропогенної трансформації екосистем.

Відповідно до мети було поставлено такі завдання:

- проаналізувати щільність та структуру популяцій озерної жаби, водяного та звичайного вужів в умовах різних екосистем північно-степового Придніпров'я;

- виявити відмінності біохімічних показників сироватки крові цих видів у різних за ступенем антропогенної трансформації біотопах;

- дослідити експресію гліального фібрилярного кислого білку в мозку вужів;

- визначити біохімічні показники крові водяних вужів у репродуктивний період;

- визначити експресію цитоскелетних білків астроцитів мозку озерної жаби в різних за ступенем антропогенної трансформації біотопах;

- оцінити прогностичне значення рівня експресії та стану молекулярного цитоскелетного маркера ГФКБ в мозку амфібій і рептилій.

Об'єкт досліджень – особини і популяції *Pelophylax ridibundus*, *Natrix tessellata*, *N. natrix* північно-степового Придніпров'я.

Предмет досліджень – популяційні характеристики озерної жаби, звичайного та водяного вужа: щільність населення, морфометричні показники, статева структура, біохімічні показники сироватки крові, вміст гліального фібрилярного кислого білка астроцитів мозку.

Методи досліджень – методи маршрутного обліку, морфометричні методи, загальноприйняті методи визначення біохімічних показників крові, електрофорез у градієнтному поліакриламідному гелі, імуноблотинг, метод Лоурі.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше:

- з'ясовано відмінності біохімічних показників сироватки крові рептилій і амфібій, що досліджувалися, у різних за ступенем антропогенної трансформації біотопах;

- визначено референсні біохімічні показники сироватки крові фонових гігрофільних видів герпетофауни (*Pelophylax ridibundus*, *Natrix tessellata*, *N. natrix*) в умовах північно-степового Придніпров'я;

- проаналізовано рівень експресії та стан молекулярного цитоскелетного маркера гліального фібрилярного кислого білку в мозку двох видів змій та озерної жаби в умовах антропогенного забруднення екосистем;

- визначено біохімічні показники крові водяних вужів у репродуктивний період.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані здобувачем дані використані у науковій роботі Дніпровсько-Орільського природного заповіднику, увійшли до Літопису природи та дозволили запропонувати заходи щодо покращення охорони та збереження плазунів заповідника. Наукові дані з екології плазунів степової зони України увійшли до наукових звітів державних наукових тем України. Дані з екології видів, що досліджувалися, використано

для розробки СЕО (стратегічна екологічна оцінка), програм післяпроектного моніторингу та його проведення, для оцінки впливу на довкілля (ОВД) планованої господарської діяльності. Отримані під час виконання дисертаційної роботи наукові дані можуть використовуватися для оцінки та прогнозування стану герпетофауни, у біоіндикаційних дослідженнях екосистем та системі біомоніторингу.

Біоетика. Під час виконання дисертаційної роботи автором дотримано всіх вимог біоетики щодо поводження з тваринами. Роботи с тваринами проводили відповідно до вимог Комісії з біоетики Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно опрацював літературу за темою дисертаційної роботи, спланував і провів польові та експериментальні дослідження, аналіз і статистичну обробку отриманих результатів. Опубліковані у співавторстві матеріали належать авторам відповідно до їх внеску. Для публікацій, включених до наукометричних баз (Scopus, Web of Science Core Collection), та у фахових виданнях України вказаний особистий внесок здобувача.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були схвалені на науково-практичних конференціях: VIII, X Міжнародні наукові конференції «Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах» (Дніпро, 2015, 2019); IX Міжнародна конференція Українського герпетологічного товариства "Читання пам'яті професора Євгена Максимовича Писанця" (Київ, 2017); II International Scientific Conference «Ecological studies of forest ecosystems of the steppe zone of Ukraine» (Dnipro, 2018); XII Міжнародна наукова конференція молодих учених «Наукові основи збереження біотичної різноманітності» (Львів, 2015); 14th International Young Scientist's Biology Conference «Biology from a molecule up to the biosphere» (Kharkiv, 2019); X Міжнародна конференція Українського герпетологічного товариства (Кам'янець-Подільський, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 робіт: з них статей у виданнях, включених до наукометричних баз Scopus та Web of Science Core Collection – 2, а також у фахових виданнях України – 9, 10 статей та тез доповідей. Матеріали дисертації у достатньому обсязі викладено у друкованих працях і апробовані на конференціях і семінарах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 8 розділів з окремим переліком посилань після кожного розділу, висновків. Загальний список використаної літератури складає 340 джерел, з яких 145 латиницею. Основний обсяг дисертації складає 175 сторінок. Робота містить 10 таблиць, 37 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Використання біомаркерів для оцінки стану популяцій амфібій і рептилій в умовах антропогенного навантаження на екосистеми – розглянуто загальну характеристику екологічних, трофічних, поведінкових особливостей та ареал поширення фонових гігрофільних видів герпетофауни

північно-степового Придніпров'я: озерної жаби *Pelophylax ridibundus* та вужів *Natrix tessellata*, *N. natrix*. Увагу приділено можливості біотестування навколишнього середовища за допомогою оцінки стану популяцій хребетних (Гассо и др., 2010; Дробот, Ремизова, 2012; Brodeur, Candioti, 2017). Описано особливості використання біохімічних показників сироватки крові як біомаркеру стану популяцій в умовах екосистем з різним антропогенним навантаженням (Dickinson et al., 2002; Lopez-Olvera et al. 2003 та ін.). Проаналізовано попередні результати досліджень вітчизняних та зарубіжних авторів стану цитоскелетних молекулярних компонентів мозку тварин як маркерів патологічного стану нервової системи хребетних в умовах промислового забруднення екосистем (Kirischuk et. al., 2012; Clarke, Barres, 2013; Verkhatsky et. al., 2014).

ФІЗИКО-ГЕОГРАФІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНУ ДОСЛІДЖЕНЬ

Охарактеризовано геологічні, гідрологічні та кліматичні особливості північно-степового Придніпров'я (Бельгард, 1950; Маринич та ін., 1985; Белова, Травлеев, 1999), геоморфологічний профіль, рослинний і тваринний світ (Бельгард, 1971; Булахов та ін., 2009; Барановський та ін., 2015).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Представляє загальну експериментальну модель досліджень. Досліджували популяції озерної жаби, водяного та звичайного впродовж 2012–2016 рр. в екосистемах з різним антропогенним навантаженням. Дослідження проводили у 10-ти локалітетах (рис. 1).

Визначення гліальних філаментів та біохімічних параметрів астроцитів проводили за допомогою імуноблотингу з використанням поліклональної моноспецифічної антисироватки в розведенні 1:1500 (Nedzvetsky et al., 2006; Романенко, 2007, та ін.). Скановані результати імуноблотингу обробляли за допомогою комп'ютерної програми AlphaImager 2200. Кількісний аналіз ГФКБ проводили шляхом порівняння інтенсивностей забарвлення відповідних поліпептидних зон між експериментальними і контрольними пробами, віднесених до кількості загального білку у фракціях. Вміст загального білка визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера (Miller, 2003). Біохімію сироватки крові досліджували за стандартними методиками із триразовою повторністю (Меньшиков, 2003; Бабак, 2006).

Всього досліджено озерних жаб – 98, водяних вужів – 73, звичайних вужів – 36. Для біохімічних досліджень використано озерних жаб – 14, водяних вужів – 32, звичайних вужів – 21. Отримані результати обробляли методами математичної статистики для малих вибірок. Значущі відмінності оцінювали за допомогою U-критерію Манна–Уїтні. Для попарного порівняння груп використали непараметричний метод Краскала–Уолліса та критерій Дана. Відмінності вважали значущими за $P < 0,05$. Використовували пакет Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA, 2011).

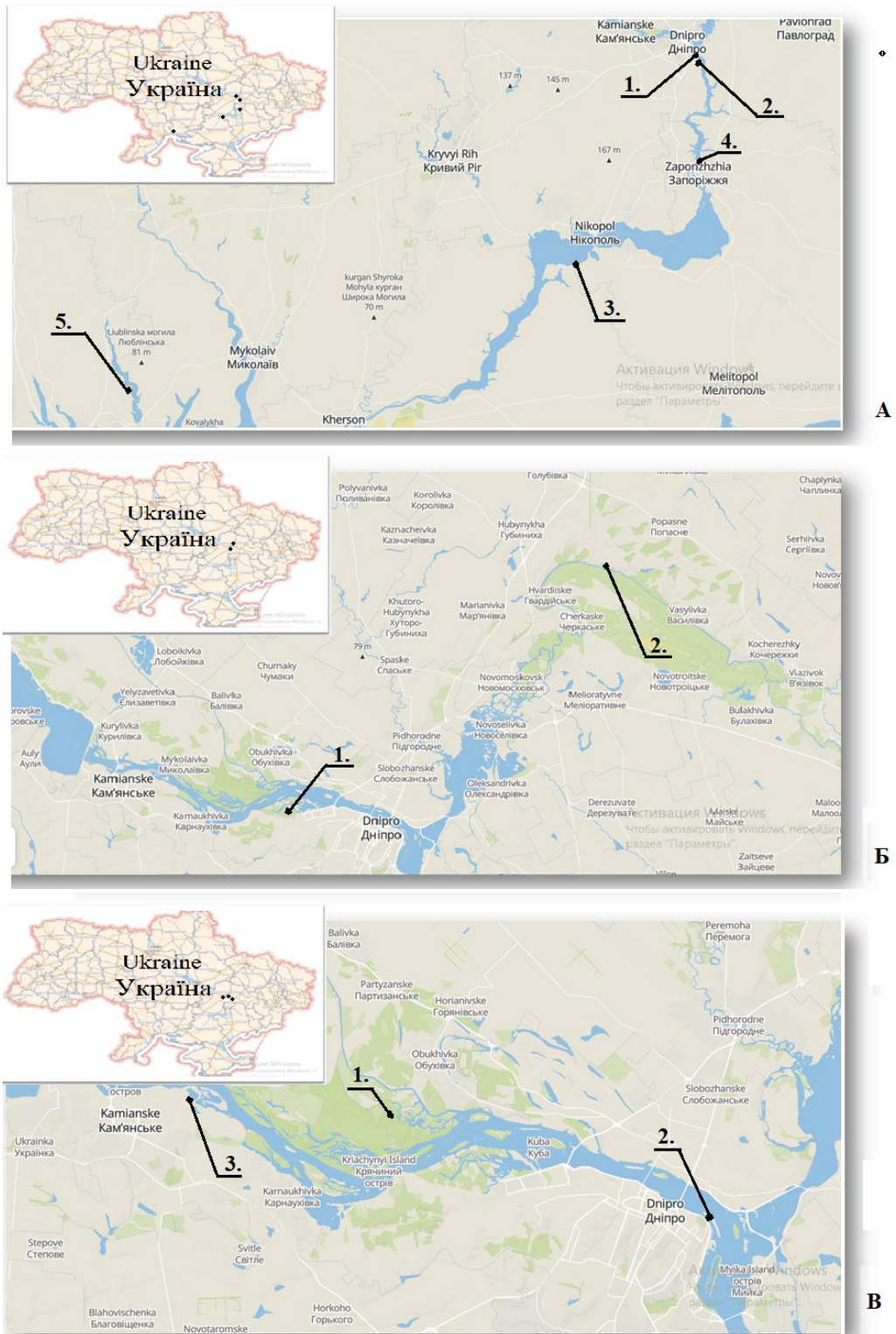


Рис. 1. Локалітети проведення досліджень. А – *Natrix tessellata*: 1 – зона забруднення (санітарно-захисна зона (СЗЗ) Придніпровської ТЕС, р. Дніпро); 2 – природні екосистеми р. Дніпро (Майорова балка, Дніпропетровська область); 3 – природні екосистеми р. Дніпро (біля межі Національного природного парку «Великий Луг»); 4 – зона забруднення (місця скидів металургійного комбінату «Запоріжсталь», р. Дніпро); 5 – Тилігульський лиман (Миколаївська область). Б – *N. natrix*: 1 – антропогенно трансформовані екосистеми (м. Дніпро, р. Дніпро); 2 – Самарський ліс (Присамарський міжнародний біосферний стаціонар (ПМБС) ім. О. Л. Бельгарда). С – *Pelophylax ridibundus*: 1 – природний заповідник «Дніпровсько-Орільський»; 2 – зона рекреації (Монастирський острів, м. Дніпро); 3 – зона забруднення (місця скидів ПАТ «Дніпровський металургійний комбінат» (р. Дніпро, м. Кам'янське).

ЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОПУЛЯЦІЙ АМФІБІЙ І РЕПТИЛІЙ В УМОВАХ ЕКОСИСТЕМ З РІЗНИМ АНТРОПОГЕННИМ НАВАНТАЖЕННЯМ

Досліджено популяційні параметри: щільність населення, статеву структуру, особливості активності та просторової структури. Відмічено, що затіненість та ступінь обводненості території зумовлюють просторовий розподіл особин гігрофільних видів герпетофауни в екосистемі. Для змій *Natrix* спостерігалися характерні скупчення (до 11 особин) в місцях з оптимальними умовами для баскінгу та укриття. Для популяцій звичайного вужа характерний широкострічковий тип просторової структури. На відміну від водяного вужа, цей вид в меншій мірі трофічно прив'язаний до водойм (Булахов та ін., 2007). Чисельність звичайного вужа в екосистемах, що досліджувалися, відповідає літературним даним (Бакиев и др., 2004; Булахов та ін., 2007; Woczyk, 2007, та ін.).

Популяції *N. tessellata* водних екосистем Майорової балки, національного природного парку «Великий Луг» та Тилігульського лиману характеризуються вузькострічковим суцільним типом просторової структури. В антропогенно трансформованих екосистемах – ССЗ Придніпровської ТЕС та місцях впливу викидів металургійного комбінату «Запоріжсталь» – вузькострічковим розірваним. У НПП «Великий Луг» відмічено переважання самців над самицями. Для популяцій з екосистем Майорової балки та ССЗ Придніпровської ТЕС встановлена зворотна тенденція.

Щільність населення озерної жаби у природному заповіднику «Дніпровсько-Орільський» за період досліджень змінюється у межах від 16 до 93 ос./100 м берегової лінії до моменту появи постметаморфічних особин. Активність дорослих тварин найвища у квітні, в період нересту. Щільність популяцій закономірно скачкоподібно збільшується після закінчення метаморфозу у липні–серпні і становить 28–233 ос./100 м берегової смуги. Популяція характеризується високим рівнем поповнення. У цей період цьогорічки становлять 31,1% популяції за середніх розмірів постметаморфічних особин 2,6 см з вагою 2,8 г.

Щільність населення озерної жаби у зоні забруднення (ПАТ «Дніпровський металургійний комбінат») складає 7–57 ос./100 м берегової лінії. Під час закінчення метаморфозу у липні–серпні нараховують 16–103 ос./100 м берегової смуги. Популяція характеризується невисоким рівнем поповнення. У цей період цьогорічки становлять лише 24,3% популяції. Середні розміри постметаморфічних особин 2,3 см, вага – 2,4 г. Щільність населення озерної жаби у рекреаційній зоні м. Дніпро (о-в Монастирський) за період досліджень змінюється у межах від 12 до 68 ос./100 м берегової лінії. Під час виходу цьогорічок щільність збільшується до 27–93 ос./100 м берегової смуги. Середні розміри постметаморфічних особин 2,5 см з вагою 2,6 г.

СТАН БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ПОПУЛЯЦІЙ ЗМІЙ РОДУ NATRIX В УМОВАХ ЕКОСИСТЕМ З РІЗНИМ АНТРОПОГЕННИМ НАВАНТАЖЕННЯМ

Представлено результати дослідження біохімічних параметрів крові статевозрілих особин змій (табл. 1).

Таблиця 1

Показники сироватки крові звичайного вужа з екосистем із різним ступенем антропогенної трансформації ($x \pm SD$)

Показник	Самарський ліс, n = 13	м. Дніпро, n = 11
Загальний білок, г/л	46,1 ± 9,4	46,6 ± 3,8
Альбуміни, г/л	18,4 ± 2,0	21,3 ± 1,2
Глобуліни, г/л	29,5 ± 4,9	26,1 ± 2,5
Білковий коефіцієнт, од.	0,59 ± 0,08	0,82 ± 0,04*
АСТ, од./л	103,0 ± 13,0	155,0 ± 14,0*
АЛТ, од./л	42,0 ± 10,2	77,5 ± 37,3*
Індекс де Рітца, од.	2,71 ± 1,16	1,92 ± 0,92
Сечовина, ммоль/л	2,16 ± 0,23	1,11 ± 0,52*
Азот сечовини, мг/дл	3,82 ± 1,11	2,03 ± 0,82*
Лужна фосфатаза, од./л	50,3 ± 6,4	68,4 ± 7,2*
Глюкоза, ммоль/л	3,66 ± 0,24	3,81 ± 2,30
Загальний кальцій, ммоль/л	3,06 ± 0,13	3,19 ± 0,11
Фосфор неорг., ммоль/л	2,12 ± 0,45	1,63 ± 0,20*
Відношення Ca : P	1,43 ± 0,22	2,19 ± 0,31*

Примітка: x – середнє значення, SD – середньоквадратичне відхилення; * – $P < 0,05$ (за U-критерієм Мана – Уїтні).

Виявлено зниження білкового коефіцієнта сироватки крові (на 30%) особин, виловлених із біотопів, які перебувають під впливом техногенного навантаження. Кількість альбумінів і глобулінів сироватки крові змій варіює та залежить від багатьох факторів (Dickinson et al., 2002; Peterson, 2002), а отримані результати відповідають наведеним діапазнам значень даного показника для інших видів рептилій (Lisičić et al., 2013; Степаненко, 2013). Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові вужів в умовах антропогенно-трансформованих екосистем (р. Дніпро) підвищується на 76% порівняно з контрольними показниками, що цілком може свідчити про порушення активності печінки та про інші патологічні процеси (табл. 1). Активність АСТ у сироватці крові також збільшується у змій із зони забруднення, де показник перевищує значення, відомі для рептилій (Васильєв, 2006; Степаненко, 2013).

Кількість сечовини та азоту сечовини у сироватці крові змій, які мешкають в антропогенно-трансформованих біотопах, зменшується в 1,9 раза порівняно з тваринами Самарського лісу (табл. 1). Також визначене підвищення активності лужної фосфатази (на 27%), хоча визначені дані перебувають у межах показників відомих для змій (Knotek et al., 2002; Васильєв, 2006; Степаненко, 2013). Кількість неорганічного фосфору в сироватці крові вужів, виловлених на антропогенно трансформованих територіях, зменшується на 31% (табл. 1).

Відповідно, співвідношення Са : Р достовірно підвищується майже на 30% у вужів з антропогенно трансформованих екосистем.

У сироватці крові особин *Natrix tessellata* з біотопів СЗЗ Придніпровської ТЕС виявлено зниження вмісту глобулінів та підвищення вмісту альбумінів, що призводить до зниження значення білкового коефіцієнту, порівняно з вужами з інших локалітетів (табл. 2).

Таблиця 2.

Характеристика сироватки крові *Natrix tessellata* з екосистем Придніпров'я з різним ступенем антропогенної трансформації ($\bar{x} \pm SD$)

Показник	НПП «Великий Луг», n = 7	Майорова балка, n = 8	СЗЗ Придніпровської ТЕС, n = 6	P
Загальний білок, г/л	51,4 ± 1,12	50,0 ± 1,86	51,0 ± 1,52	0,793
Глобуліни г/л	28,0 ± 1,05	27,5 ± 0,92	23,0 ± 0,71	0,009
Альбуміни, г/л	23,4 ± 1,03	22,5 ± 1,05	28,0 ± 0,89	0,012
Білковий коефіцієнт	1,21 ± 0,08	1,22 ± 0,04	0,82 ± 0,02	0,007
АСТ, од./л	77,8 ± 18,2	52,5 ± 13,4	72,4 ± 15,3	0,362
АЛТ, од./л	87,4 ± 15,9	40,0 ± 4,64	35,4 ± 4,20	0,008
Лужна фосфатаза, од./л	104,2 ± 15,54	96,2 ± 9,97	80,00 ± 6,93	0,595
Глюкоза, ммоль/л	2,3 ± 0,08	2,52 ± 0,10	6,20 ± 1,40	0,004
Загальний кальцій, ммоль/л	3,37 ± 0,23	4,20 ± 0,78	3,21 ± 0,95	0,005
Фосфор неорг., ммоль/л	1,78 ± 0,17	1,50 ± 0,16	1,48 ± 0,11	0,256

Примітка: \bar{x} – середнє значення, SD – середньоквадратичне відхилення; * – P < 0,05 (за методом Краскела-Уолліса).

У сироватці крові водяних вужів з НПП «Великий Луг» виявлена підвищена активність АЛТ відносно інших груп змій, що досліджувалися. Особини з СЗЗ Придніпровської ТЕС мають майже у 3 рази значуще вищий рівень глюкози, ніж вужі інших груп (табл. 2).

Значуща різниця концентрацій вмісту загального кальцію в сироватці крові виявлена між рептиліями з СЗЗ Придніпровської ТЕС та Майорової балки.

ВПЛИВ ПРОМИСЛОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ЕКОСИСТЕМ НА АСТРОЦИТИ МОЗКУ ЗМІЙ: ГФКБ ЯК БІОМАРКЕР

Продемонстровано показники експресії гліального фібрилярного кислого білку в мозку змій роду *Natrix* в умовах екосистем з різним ступенем антропогенної трансформації.

Аналіз активних форм киню (АФК) у мозку водяних вужів з обох забруднених локалітетів (СЗЗ Придніпровської ТЕС та м. Запоріжжя) показав їх істотне збільшення відносно змій, що мешкають в умовно чистих біотопах у Майорової балки, – в 1,6 та 1,7 рази відповідно (рис. 2).

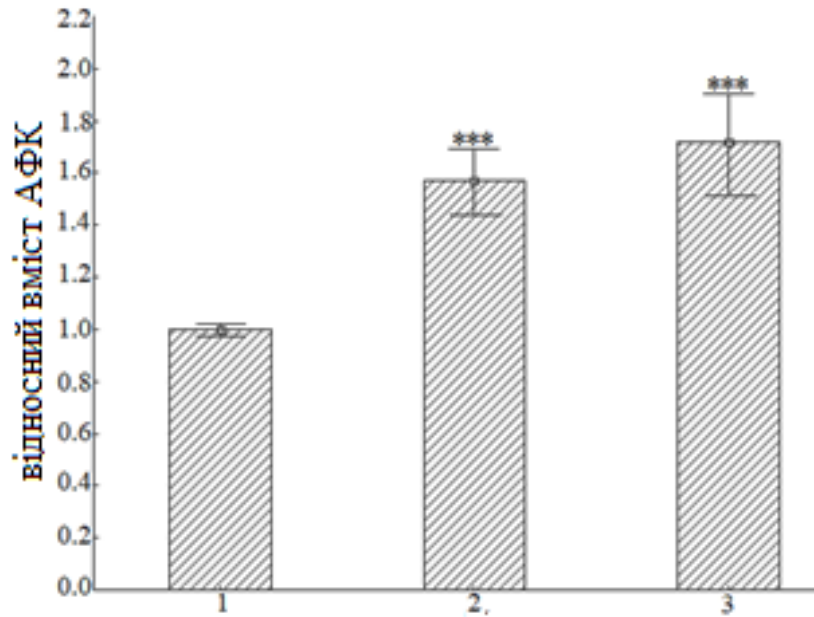


Рис. 2. Активні форми кисню в мозку *Natrix tessellata* як відносна інтенсивність флуоресценції, нормалізована до контролю (середнє значення вибірки та SD):
 1 – контроль – природні біотопи (Майорова балка, n = 6); 2 – зона забруднення (ССЗ Придніпровської ТЕС), n = 6; 3 – зона забруднення (меткомбінат «Запоріжсталь», р. Дніпро), n = 6; *** - P < 0,001

Вміст ГФКБ у філаментній цитоскелетній (нерозчинній) фракції (фГФКБ) та розчинній цитозольній фракції (рГФКБ), виявленій у мозку змії із забруднених біотопів, суттєво збільшений порівняно з особинами, відібраними з контрольної популяції умовно чистих природних екосистем (рис. 3, 4).

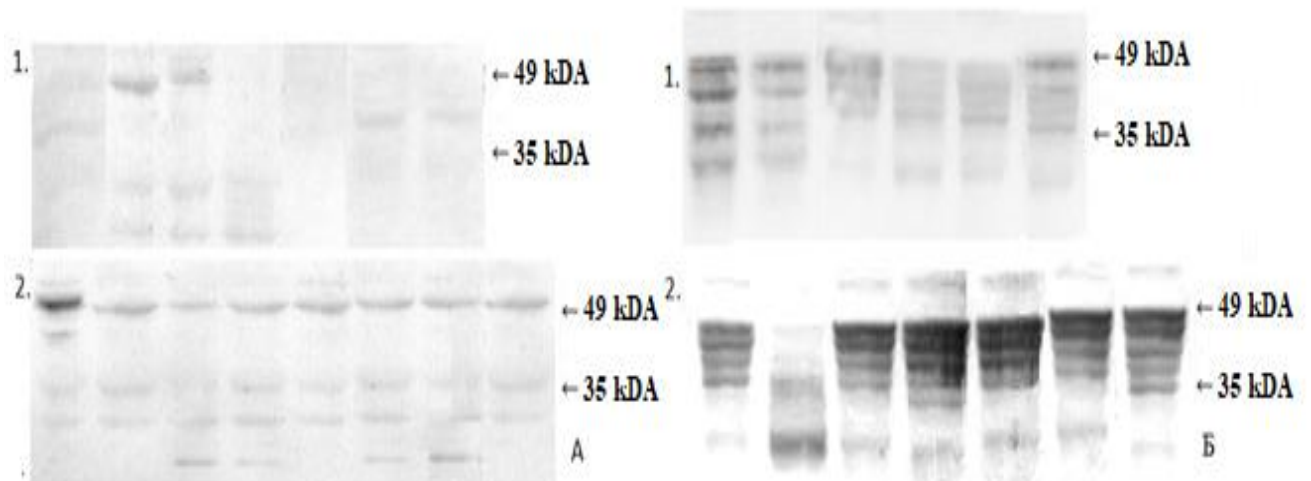


Рис. 3. Результати імуноблотингу цитозольної (А) та філаментної (Б) фракції білків головного мозку *Natrix natrix*: 1 – Самарський ліс (Присамарський міжнародний біосферний стаціонар ім. О. Л. Бельгарда); 2 – зона забруднення (р. Дніпро, м. Дніпро).

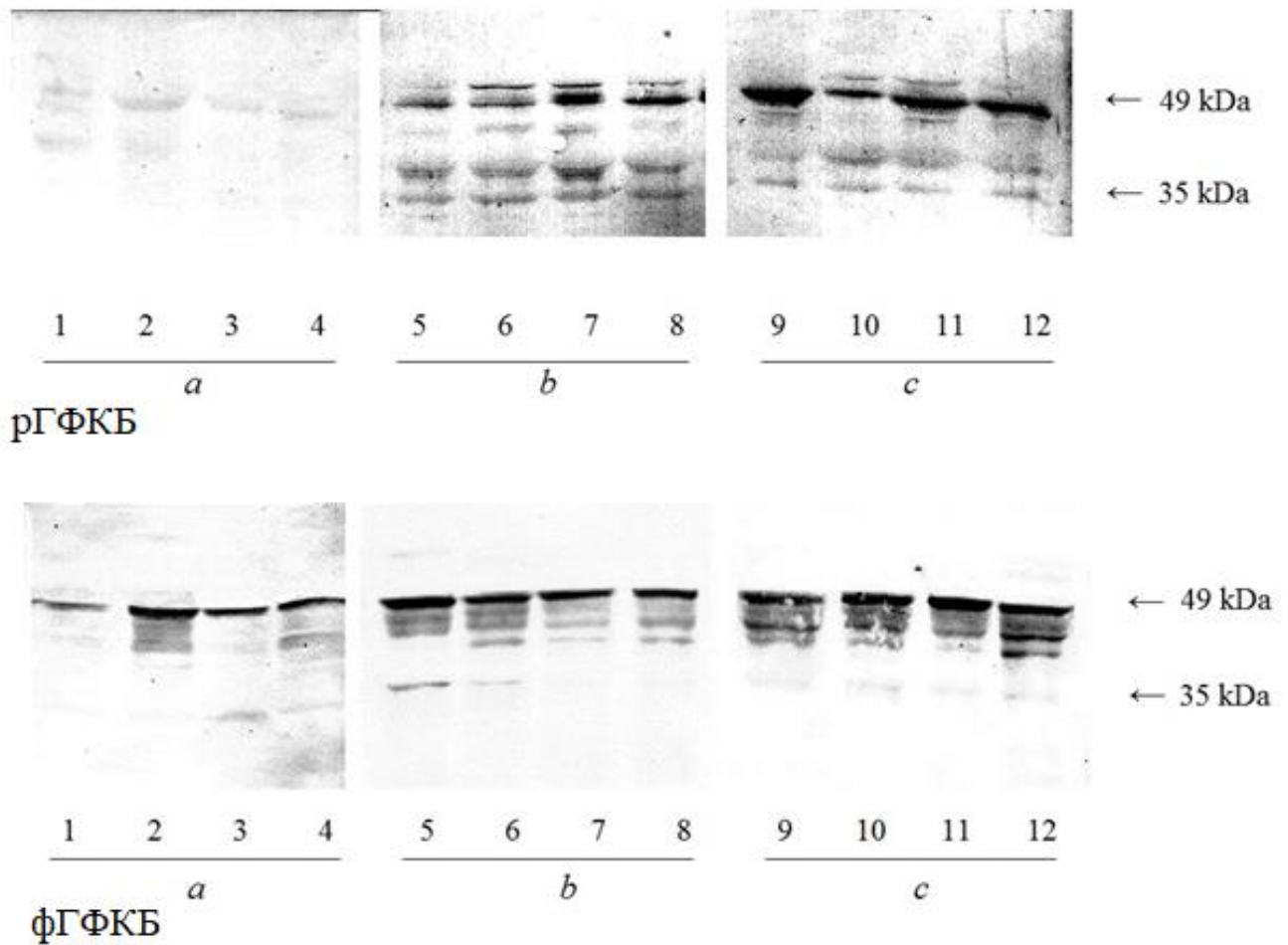


Рис. 4. Імуноблотинг філаментної та цитозольної білкової фракції ГФКБ мозку *N. tessellata*: а – контроль – природні біотопи (Майорова балка); б – зона забруднення (Придніпровська ТЕС); с – зона забруднення (меткомбінат «Запоріжсталь», р. Дніпро)

Вміст фГФКБ у мозку водяних вужів із забруднених ділянок ССЗ Придніпровської ТЕС та меткомбінату «Запоріжсталь» збільшується в 1,7 та 2,2 рази відповідно. Співвідношення рГФКБ/фГФКБ у особин, виловлених в санітарно-захисній зоні Придніпровської ТЕС, збільшений у 5,1 рази. Відповідне збільшення (в п'ять разів) характерне і для змій виловлених в зоні промислових скидів меткомбінату «Запоріжсталь» (рис. 5).

Значне підвищення вмісту розчинної форми ГФКБ (рГФКБ) свідчить про активацію експресії білків проміжних філаментів та вивільнення окремих білкових субодиниць з філаментних структур цитоскелету. Такі зміни вказують на наявність астрогліальної реактивної відповіді на вплив негативних факторів довкілля, яка супроводжується активною реорганізацією гліального цитоскелету (Nedzvetsky et al., 2006, Pekny et al., 2014).

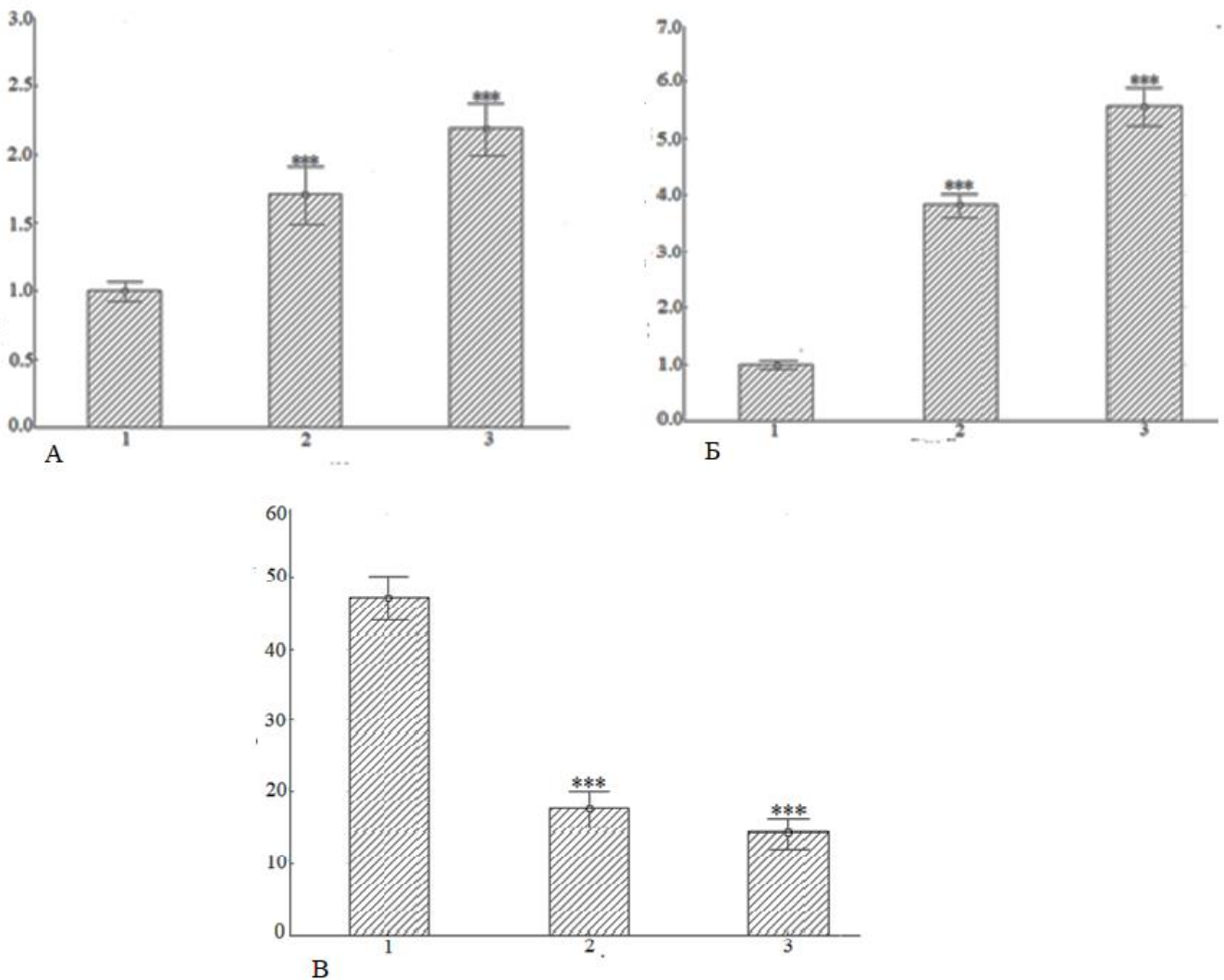


Рис. 5. Відносний вміст ГФКБ мозку *N. tessellata*, (середнє значення вибірки та SD):
 А – нерозчинна філаментна (цитоскелетна) фракції білка; Б – розчинна цитозольна фракція;
 В – співвідношення цитоскелетної та розчинної фракцій ГФКБ: 1 – контроль – природні біотопи (Майорова балка, n = 6); 2 – зона забруднення (ССЗ Придніпровської ТЕС, n = 6); 3 – зона забруднення (меткомбінат «Запоріжсталь», р. Дніпро, n = 6); *** - P < 0,001

Вміст фГФКБ у мозку звичайних вужів з антропогенно-трансформованих біотопів у межах м. Дніпро підвищується на 14,3% у порівнянні з тваринами Самарського лісу (рис. 6). Збільшення цієї нерозчинної фракції свідчить про більш інтенсивний синтез ГФКБ та фібриллогенез. Подібні процеси характерні для реактивації астроцитів у відповідь на дію несприятливих факторів. Виявлене також підвищення (на 53,2%) вмісту розчинної цитозольної фракції (рГФКБ) у змій, що мешкають у біотопах, які знаходяться під впливом антропогенного навантаження. Співвідношення рГФКБ / фГФКБ у них також збільшується (на 44,1%) (рис. 6).

Дія пошкоджуючих факторів призводить до підвищення експресії білків розчинної фракції ГФКБ (проміжних філаментів). З іншого боку, цитоскелет активно перебудовується, що забезпечується вивільненням окремих білкових субодиниць з філаментних структур. Відомо, що після утворення відповідних

розчинних білкових субодиниць вони надзвичайно швидко з'єднуються в елементи цитоскелету. Таким чином, збільшення частки розчинної цитозольної фракції ГФКБ у порівнянні з філаментною свідчить про зменшення швидкості полімеризації таких розчинних субодиниць, що може негативно впливати на відбудову цитоскелетних елементів.

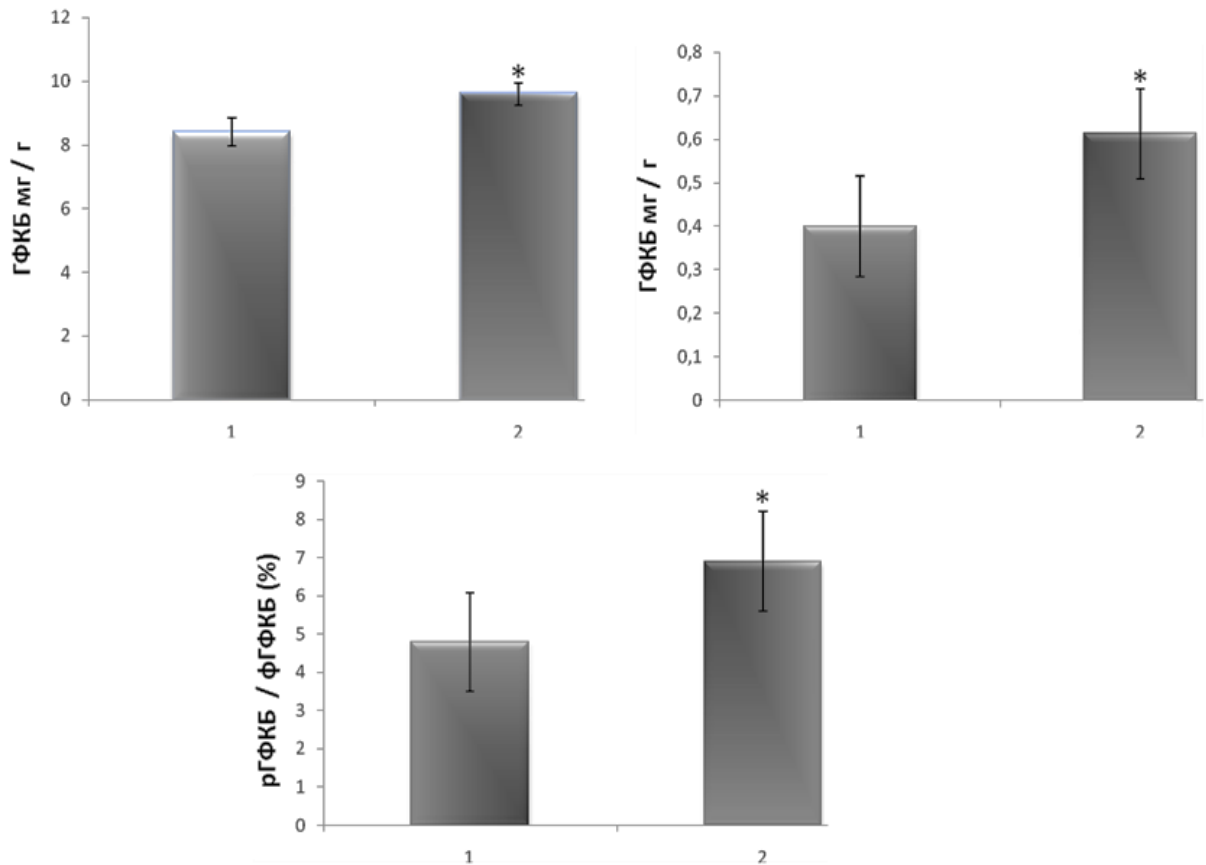


Рис. 6. Відносний вміст ГФКБ мозку *Natrix natrix* (середнє значення вибірки та SD):
 1 – Самарський ліс (ПМБС ім. О. Л. Бельгарда); 2 – зона забруднення (р. Дніпро, м. Дніпро),
 * – $P < 0,05$ (за U-критерієм Мана – Уїтні з використанням середнього значення та середньоквадратичного відхилення)

За даними імуноблотингу (рис. 7) виявлено, що як для цитозольних (рГФКБ), так і для філаментних (фГФКБ) фракцій мозку водяних вужів з біотопів Тилігульського лиману, що примикають до Тилігульського регіонального ландшафтної парку характерне збільшення кількості поліпептидних фрагментів з молекулярною масою 49-35 кДа.

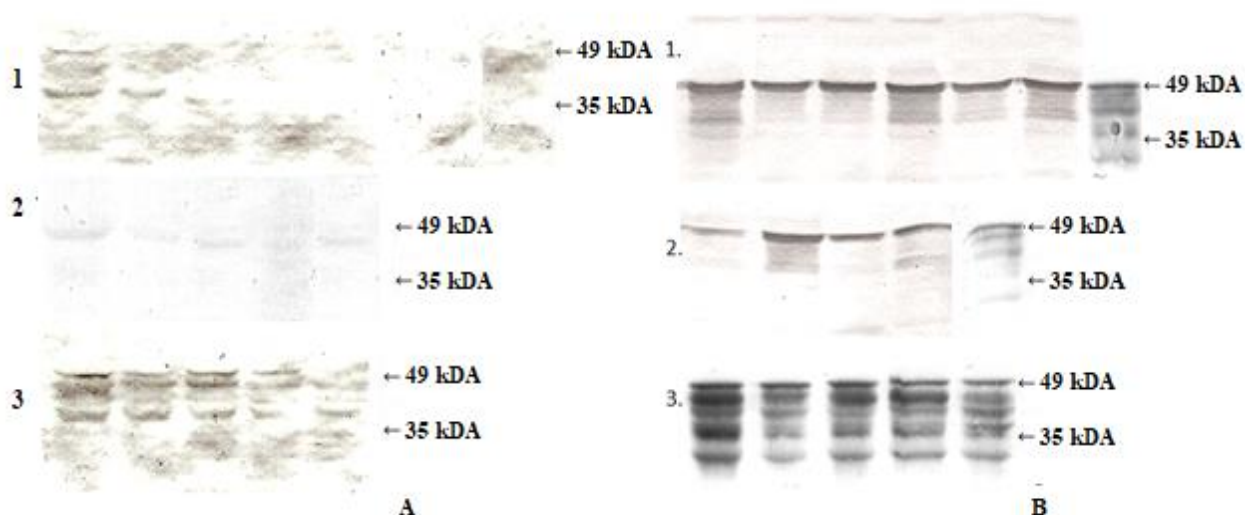


Рис. 7. Результати імуноблотингу цитозольної (А) та цитоскелетної (В) фракції білків головного мозку водяного вужа: 1 – Національний природний парк «Великий Луг»; 2 – природні екосистеми р. Дніпро (Майорова балка); 3 – Тилігульський лиман (Миколаївська область); * – $P < 0,05$ (за методом Крускала-Уолліса)

Отримані результати дозволяють припустити, що на підвищення вмісту білку гліальних проміжних філаментів в обох фракціях в мозку вужів відібраних з біотопів, що примикають до Тилігульського регіонального ландшафтного парку вплинула підвищена солоність водойми, відносно до умов існування у р. Дніпро.

ЕКОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВОДЯНИХ ВУЖІВ У РЕПРОДУКТИВНИЙ ПЕРІОД В УМОВАХ КАХОВСЬКОГО ВОДОСХОВИЩА

Описано зміни екологічних та біохімічних показників у водяного вужа в репродуктивний період.

Виявлено закономірне підвищення показників загальної довжини тіла (на 26,5%), ваги (на 144%) та, відповідно, коефіцієнту «вгодованості» (на 21 %) самиць порівняно з самцями. Співвідношення $L.corp./L.cd.$ самок ($p < 0,01$) вище (на 16 %) ніж у самців.

Кількість загального білку в сироватці крові самиць в період репродуктивної активності підвищується на 64,7%. При цьому кількість альбумінів збільшується на 73,3 %, а глобулінів – на 33 %. Відповідно змінюється значення білкового коефіцієнту (збільшення на 80 %) (табл. 3).

Виявилося, що під час вагітності кількість сечовини, азоту сечовини, сечової кислоти та рівень креатиніну в крові самок зменшується відповідно на 80 %, 84 %, 97 % та 83%. Рівень кальцію у самок рептилій в період вагітності значно підвищується – більш ніж у п'ять разів. Разом з тим, кількість неорганічного фосфору в крові самиць достовірно не збільшується. Відповідно індекс $Ca : P$ підвищується (у 3,5 рази). За іншими показниками відмінностей не виявлено.

Характеристика біохімічних показників сироватки крові
водяного вужа в репродуктивний період

Показник	Lim		x ± SD	
	♂♂♀♀	♀♀ вагітні	♂♂♀♀	♀♀ вагітні
Загальний білок, г/л	48,0 – 55,0	74,0 – 95,0	51 ± 1,7	84 ± 5,5*
Альбуміни, г/л	26,0 – 31,0	36,0 – 62,0	30 ± 2,0	52 ± 8,0*
Глобуліни, г/л	21,0 – 26,0	21,0 – 38,0	24 ± 1,9	32 ± 5,5*
Білковий коеф.	0,4 – 1,3	0,9 – 2,9	1 ± 0,2	1,8 ± 0,6
Сечовина, ммоль/л	0,1 – 6,0	0,4 – 0,8	3,2 ± 1,3	0,5 ± 0,13*
Азот сечовини, мг/дл	0,2 – 11,5	0,7 – 1,5	6,1 ± 2,4	1,0 ± 0,2*
Креатинін, мкмоль/л	8,0 – 16,0	1,0 – 3,0	9,0 ± 2,7	1,7 ± 0,67*
АСТ, од/л	49 – 143	59 – 269	53 ± 32,2	144 ± 62,5
АЛТ, од/л	56 – 143	77 – 197	72 ± 28,1	149 ± 36,1
Індекс де Рітиса, од.	0,3 – 1,7	0,3 – 3,5	0,8 ± 0,5	1,5 ± 1,02
Лужна фосфатаза, од/л	74 – 157	52 – 75	87 ± 28,2	66 ± 7,17
Загальний Са, ммоль/л	2,54 - 3,81	2,49 - 3,17	3,56 ± 0,4	19,0 ± 1,45*
Фосфор неорг., ммоль/л	1,4 - 4,47	16,01 - 20,5	1,8 ± 0,9	2,7 ± 0,22
Співвідношення Са : Р	0,9 - 2,3	4,5 - 9,1	1,9 ± 0,4	6,7 ± 1,2*
Холестерол, ммоль/л	4,9 - 8,59	2,3 - 3,5	7,79 ± 1,00	3,0 ± 0,3*
Сечова кислота, мкмоль/л	7,72 - 958	12,13 - 16,17	461 ± 271,6	13,7 ± 1,3*

Примітка: x – середнє значення, SD – середньоквадратичне відхилення; * – P < 0,05 (за U-критерієм Мана – Уїтні).

Підтверджена позитивна кореляція між розмірами самиць і плодючістю: r = 0,842 (рис. 8). Найбільша самка (L.corp. = 755 мм) мала 16 сформованих яєць. Найменше число яєць (11) знайдено у самиці довжиною тіла 637 мм.

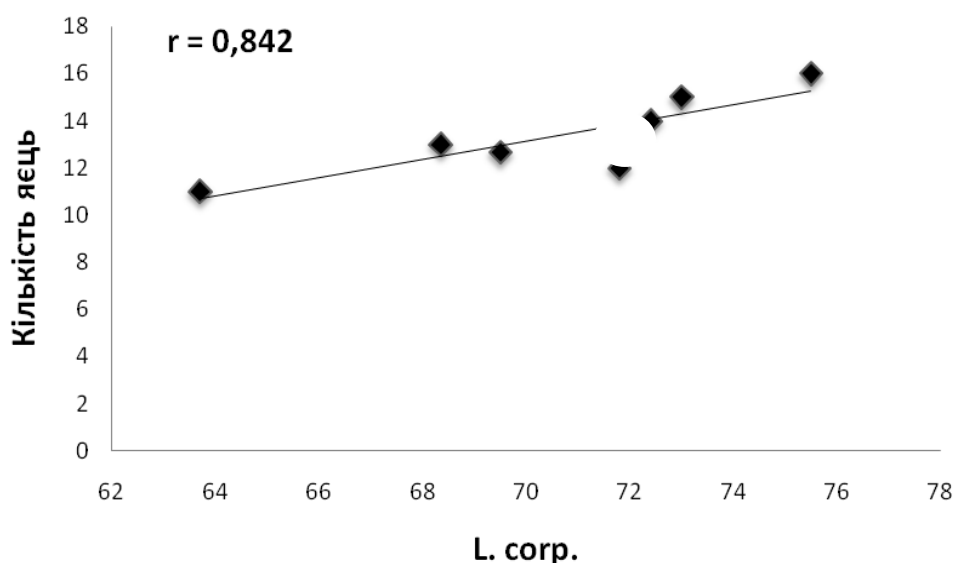


Рис. 8. Кореляція довжини тулуба (L.corp., см) і плодючості самок *N. tessellata*.

СТАН БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКИ ПОПУЛЯЦІЙ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS* (PALLAS 1771) В УМОВАХ ЕКОСИСТЕМ З РІЗНИМ АНТРОПОГЕННИМ НАВАНТАЖЕННЯМ

Досліджено зміни біохімічних показників, що можуть характеризувати стан популяції озерної жаби в умовах біотопі з різним ступенем антропогенного трансформації (табл. 4).

Таблиця 4

Біохімічні показники ($\bar{x} \pm SD$) сироватки крові *Pelophylax ridibundus* з екосистем із різним ступенем антропогенної трансформації

Показник	Природний заповідник Дніпровсько-Орільський, n = 6,	Зона рекреації (м. Дніпро), n = 4	Зона забруднення (ПАТ «ДМК»), n = 4	P
Ліпаза, од/л	35,05 ± 10,17	26,33 ± 1,34	20,75 ± 15,05	0,236
Холестерин, ммоль/л	3,31 ± 0,89	1,29 ± 0,38	1,25 ± 1,15	0,015
Тригліцериди, ммоль/л	0,31 ± 0,15	0,45 ± 0,14	0,30 ± 0,06	0,207
ЛПВЩ, ммоль/л	0,67 ± 0,14	0,34 ± 0,16	0,34 ± 0,28	0,03
ЛПНЩ, ммоль/л	2,50 ± 0,78	0,75 ± 0,16	0,78 ± 0,89	0,015
Лужна фосфатаза, од/л	67,30 ± 45,53	94,65 ± 43,35	110,78 ± 68,60	0,4
АЛТ, од/л	133,38 ± 35,90	64,35 ± 0,07	73,23 ± 34,65	0,02
Креатинін, мкмоль/л	32,43 ± 1,91	18,80 ± 1,98	34,98 ± 2,12	0,009
Загальний кальцій, ммоль/л	2,75 ± 0,48	2,16 ± 0,29	2,40 ± 0,37	0,07
Фосфор неорг., ммоль/л	4,02 ± 0,47	3,45 ± 0,08	4,19 ± 0,33	0,075

Примітка: \bar{x} – середнє значення, SD – середньоквадратичне відхилення; * – $P < 0,05$ (за методом Краскела-Уолліса).

Виявлено значуще зниження кількості холестеролу, ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) в плазмі крові особин вилучених з біотопів ПАТ «Дніпровський металургійний комбінат» в порівнянні з жабами з Природного заповідник Дніпровсько-Орільський. Для показників ЛПВЩ та ЛПНЩ також виявлено статистично значущі відмінності для особин з біотопів природного заповідник Дніпровсько-Орільський у порівнянні з *P. ridibundus* з зони рекреації (м. Дніпро).

Відносні зміни даних показників можуть вказувати на вплив техногенного навантаження на ліпідний обмін в організмі популяції амфібій. Для показника активності аланінамінотрансферази (АЛТ) сироватки крові озерної жаби виявлене значуще його зниження у амфібій з антропогенно трансформованих біотопів (зони рекреації, м. Дніпро та зони забруднення, ПАТ «ДМК») у порівнянні з тваринами із біотопів заповідника. Разом з тим, рівень креатиніну крові жаб з біотопів у межах м. Дніпро знижений відносно інших груп тварин, що досліджувалися (табл. 4).

Дослідження цитоскелетних білків астроцитів мозку озерних жаб з забруднених ділянок виявило зміни вмісту тубуліну і ГФКБ у порівнянні з жабами з заповідника (рис. 9).

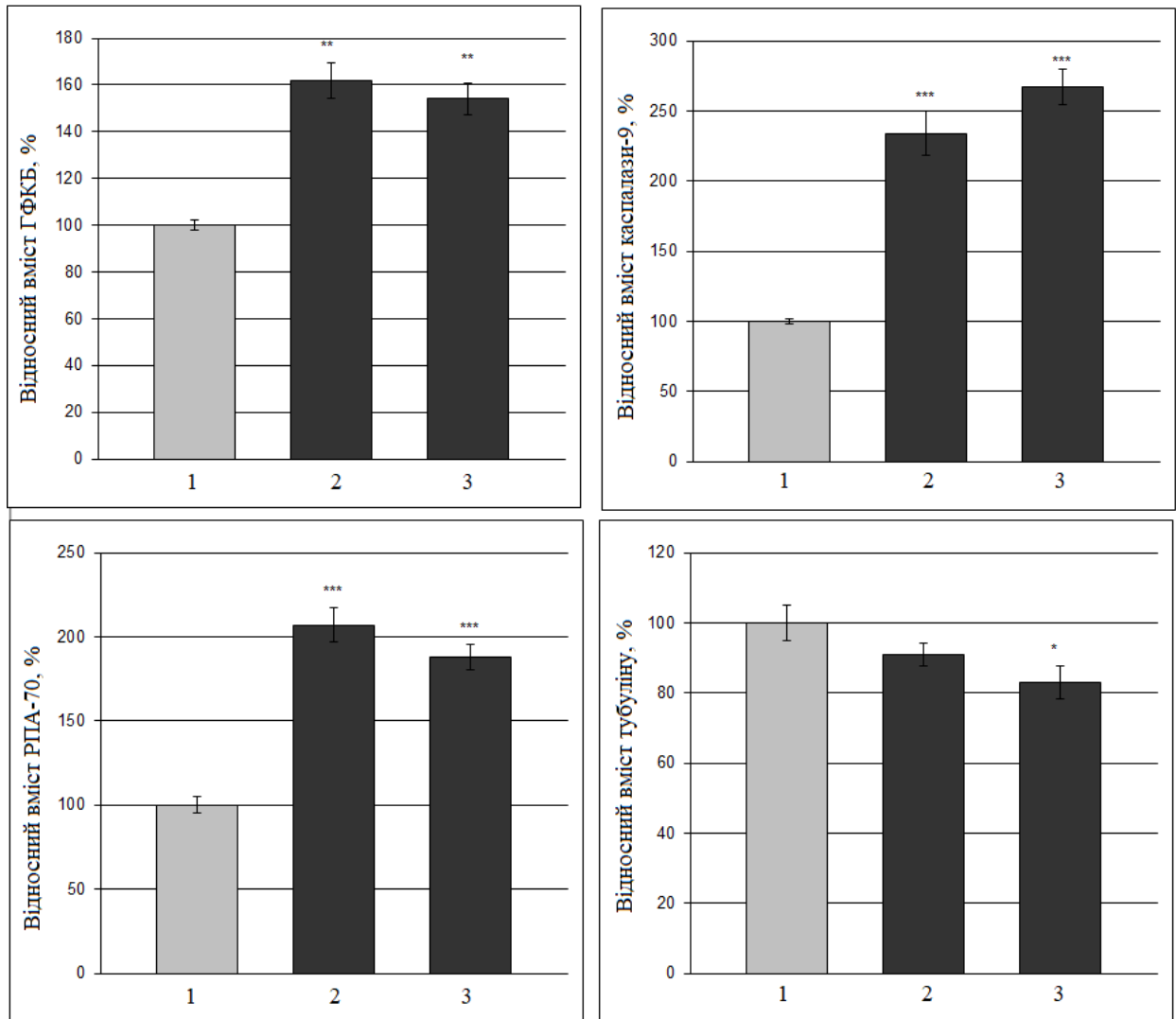


Рис. 9. Біохімічні показники клітин нейроглії мозку *Pelophylax ridibundus* з екосистем із різним ступенем антропогенної трансформації: 1 – Природний заповідник Дніпровсько-Орільський; 2 – Зона рекреації (м. Дніпро); 3 – Зона забруднення (ПАТ «Дніпровський металургійний комбінат»), * – $P < 0,05$; *** – $P < 0,001$ (за методом Краскела-Уолліса).

Всі елементи цитоскелету беруть участь у регуляції життєво важливих клітинних процесів, таких як внутрішньоклітинний транспорт, проліферація, регуляція клітинної відповіді тощо. Враховуючи критичну роль цитоскелета в підтримці гомеостазу і специфічних функцій клітин нервової тканини, зміни цитоскелета можуть відбиватися на життєздатності клітин, що в свою чергу веде до зниження життєздатності організму і популяції.

Встановлено значне зростання вмісту реплікаційного білка А (РПА–70) в клітинах мозку озерної жаби з забруднених біотопів, що вказує на істотну активацію процесів репарації ДНК пошкоджень. Реплікаційний білок А (РПА) є одним з ключових білків у забезпеченні стабільності та цілісності ДНК, необхідний для багатьох процесів метаболізму ДНК, включаючи реплікацію, рекомбінацію та шляхи репарації ДНК. РПА – це одноланцюговий ДНК-

зв'язуючий білок, що зв'язує одноланцюгову ДНК. Його збільшення вказує на наявність ушкоджень ДНК, які клітина намагається виправити.

У той же час, виявлено значне зростання вмісту активованої каспази-9. Відомо, що каспази запускають ланцюги апоптичної смерті клітин. Збільшення їх вмісту свідчить про індукцію апоптозу в клітинах мозку озерних жаб, які мешкають в умовах антропогенно трансформованих екосистем.

ВИСНОВКИ

1. Екологічні характеристики популяцій гігрофільних видів герпетофауни, що досліджувалися, знаходяться у межах значень, відомих для цих видів. Антропогенний вплив змінює статеву структуру популяцій та зменшує їх чисельність. У популяціях водяного вужа в забруднених біотопах протягом усього періоду активності домінують самиці, що відображає потребу в підтриманні чисельності в екосистемах з несприятливими умовами існування внаслідок антропогенного навантаження. Щільність та статеві структури популяцій звичайного вужа з антропогенно трансформованих екосистем значуще не відрізняються від популяцій з біотопів Самарського лісу. У зоні забруднення відбувається зниження щільності населення популяцій озерної жаби при цьому співвідношення статей істотно не змінюється.

2. Біохімічні показники сироватки крові звичайного та водяного вужів, що мешкають у біотопах під впливом техногенного навантаження, змінюються, але не повною мірою відображають стан змій та їх популяцій. Це спонукає на пошук і використання відповідних біомаркерів, які б виявляли значущі зміни в організмі тварин, які виходять за межі норми та відбуваються вже на ранніх етапах. Отримані референсні значення можуть використовуватися в подальших дослідженнях популяцій цих видів.

3. Незважаючи на обмежені дані про біологію гліальних клітин мозку рептилій, наші результати доводять, що астроцити змій можуть реагувати на токсичний вплив навколишнього середовища типовою астрогліальною реакцією.

4. Стан гліального цитоскелету, який розглядається як показник токсичного впливу хімічних забруднювачів довкілля та вважається перспективним для використання у біомоніторингу, може піддаватися впливу інших хімічних чинників, які не вважаються забруднювачами. Виявлено, що солоність водою може викликати збільшення вмісту молекулярних маркерів ураження нервової тканини мозку у змій.

5. У репродуктивний період значення біохімічних показників сироватки крові значно змінюються у вагітних самиць водяних вужів. Це необхідно враховувати при використанні цих параметрів для біоіндикації впливу негативних факторів навколишнього середовища.

6. Зміни в організмі водяних вужів під час репродуктивного періоду не впливають на вміст ГФКБ. Отже, стан цитоскелету гліальних клітин можна

розглядати в якості надійного і достовірного біомаркера несприятливого впливу факторів навколишнього середовища.

7. Результати дослідження стану нейроглії амфібій показали принципово значущі для нервової тканини молекулярні порушення стану цитоскелета, індукцію клітинної загибелі і активацію системи репарації ДНК. Всі зазначені молекулярні маркери можуть бути валідними показниками токсичного впливу забруднювачів навколишнього середовища.

8. Стан гліального фібрилярного кислого білка можна розглядати як надійний та достовірний біомаркер негативного впливу забруднювачів за допомогою якого можна оцінити пошкоджуючі ефекти на ранніх етапах їх проявів.

Список праць здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

У фахових виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

1. Gasso, V. Y., **Hahut, A. N.**, Yermolenko, S. V., Hasso, I. A., Agca, C. A., Sukharenko, E. V., & Nedzvetsky, V. S. (2020). Local industrial pollution induces astrocyte cytoskeleton rearrangement in the dice snake brain: GFAP as a biomarker. *Biosystems Diversity*, 28(3), 250–256. doi: 10.15421/021623 (Особистий внесок: збирання матеріалу, обробка отриманих результатів) (Scopus)
2. Гассо, В. Я., **Гагут, А. М.**, & Єрмоленко, С. В. (2016). Біохімічні показники крові звичайного вужа (*Natrix natrix*) з екосистем із різним ступенем антропогенного навантаження. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина* 7(2), 127–131. doi: 10.15421/012033. (Особистий внесок: збирання матеріалу, обробка отриманих результатів, написання статті) (Web of Science)

Публікації у наукових фахових виданнях України:

1. Yermolenko, S. V., **Hahut, A. M.**, & Gasso, V. Ya. (2016). Morphophysiological indices of internal organs of the dice snake *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) of the Dnieper river in the Steppe Zone. *Збірник праць Зоологічного музею*, 20–29. (Особистий внесок: виконання польових досліджень, обробка отриманих результатів)
2. **Гагут, А. М.** (2015). Особливості екології та біохімії крові водяних вужів у репродуктивний період в умовах Каховського водосховища. *Питання біоіндикації та екології*, 20(1), 226–236.
3. Гассо, В. Я., **Гагут, А. М.**, & Єрмоленко, С. В. (2015). До характеристики популяції *Natrix natrix* в умовах екосистем з різним антропогенним навантаженням. *Питання степового лісознавства та лісової рекультивациі земель*, 44, 131–138. (Особистий внесок: виконання польових досліджень, обробка отриманих результатів)

4. Гассо, В. Я., Ермоленко, С. В., & Гагут, А. Н. (2016). Особенности популяций *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) Приднепровья северной степной подзоны. Питання біоіндикації та екології, 21(1–2), 180–193. (Особистий внесок: виконання польових досліджень, обробка отриманих результатів)
5. Гассо, В. Я., Ермоленко, С. В., Кочет, В. М., Гагут, А. М., & Пахомов, О. Є. (2018). Особливості динаміки герпетофауни природного заповідника «Дніпровсько-Орільський» в умовах кліматичних змін. Ecology and Noospherology, 29(1), 56–61. doi: 10.15421/031810 (Особистий внесок: виконання польових досліджень, обробка отриманих результатів)
6. Ермоленко, С. В., Гассо, В. Я., Гагут, А. М., Бобильов, Ю. П., & Гассо, І. А. (2019). Роль лісозахисних насаджень у підтриманні біорізноманіття герпетофауни степового Придніпров'я. Питання біоіндикації та екології. 24, 93-101. (Особистий внесок: виконання польових досліджень, обробка отриманих результатів)
7. Ермоленко, С. В., Гассо, В. Я., Гагут, А. М., Спірна, В. А., & Гассо, І. А. (2019). Біоаккумуляція важких металів у водяного вужа *Natrix tessellata* (Reptilia, Colubridae) з екосистем із різним антропогенним навантаженням в сучасних умовах степового Придніпров'я. Ecology and Noospherology, 30(2), 113-117. doi: 10.15421/031919. (Особистий внесок: виконання польових досліджень, відбір проб та їх підготовка до аналізу, статистичний аналіз результатів)
8. Недзвецкий В. С., Гассо В. Я., Гагут А. М., & Гассо І. А. (2020). Вплив забруднення кадмієм на гліальні клітини мозку: наслідки та біоіндикаційні можливості. Питання степового лісознавства та лісової рекультивациі земель. 49, 23–33. (Особистий внесок: виконання досліджень, обробка отриманих результатів)
9. Недзвецкий, В. С., Гассо, В. Я., Гагут, А. М., & Гассо, І. А. (2019). Гліальна цитотоксичність низьких доз кадмію як модель впливу забруднення важкими металами на хребетних тварин. Ecology and Noospherology, 31(1), 3–10. doi: 10.15421/032001 (Особистий внесок: аналіз літературних даних, обробка отриманих результатів)

Список публікацій, які свідчать про апробацію матеріалів дисертації:

1. Gasso V. Y., Yermolenko S. V., **Hahut A. M.**, & Hasso I. A. (2019). Ecological features of amphibian populations in urban ecosystems of Dnipro city. Proceedins X Int. Conf. Ukrainian Herpetological Society. 16-18 Sept. 2019. Kam'yanets-Podilsky. Kyiv, Ukraine. 5–6.
2. Gasso, V., Yermolenko, S., **Hahut, A.**, & Pakhomov, O. (2018) Populational and biochemical response of sand lizard to the influence of metal-working manufacturing. 10th Symposium on the Lacertids of the Mediterranean Basin & 2nd Symposium on Mediterranean Lizards. Tel Aviv, Israel. 61.
3. Nedzvetsky, V., Gasso, V., Holoborodko, K., Loza, I., Seliutina, O., Ermolenko, S., & **Hagut, A.** (2019). Innovative approach to biomonitoring of toxic loading

- on animals in native and artificial ecosystems. 3rd International Conference „Smart Bio“. Abstract book (Kaunas, Lithuania 02-04 May 2019), 288.
4. Nedzvetsky, V., Kirici, M., Gasso, V., Sukharenko, E., Yermolenko, S., **Hahut, A.**, & Hasso, I. (2019). Cadmium cytotoxicity impairs metabolic energy production and glial cytoskeleton stability. *Zoocenosis-2019*. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах: Матеріали X Міжнародної наукової конференції, 18–19.11.2019, Дніпро, 54.
 5. Spirina, V. A., **Hahut, A. M.**, Yermolenko, S. V., & Hasso, I. A. (2019). Glucose and protein in the blood serum of the dice snakes from different ecosystems. Abstracts of the young scientists conference «Modern Aspects of Biochemistry and Biotechnology», 21–22.03.2019, Ukraine, Kiev, 91.
 6. Spirina, V., Yermolenko, S., **Hahut, A.**, & Rubanenko, Y. (2019) Enzymes and lipid profile of the blood serum of *Pelophylax ridibundus* under anthropogenic load. Abstracts of the 14th International Young Scientist's «Biology Conference Biology from a Molecule up to the Biosphere», 27–29.11.2019, Ukraine, Kharkiv, 24–25.
 7. **Гагут, А. М.**, Гассо, В. Я., Єрмоленко, С. В., & Спіріна, В. А. (2018). До біохімічних показників сироватки крові водяних вужів в умовах р. Дніпра. *Ecological studies of forest ecosystems of the steppe zone of Ukraine*. II International Scientific Conference, 14–15.11.2018, Ukraine, Dnipro, 22–23.
 8. **Гагут, А. М.**, Гассо, В. Я., & Шило, Т. В. (2015). До можливості використання показників стану цитоскелету астроцитів водяного вужа для цілей біомоніторингу. *Наукові основи збереження біотичної різноманітності: Матеріали I (XII) Міжнародної наукової конференції молодих учених*, 21–22.03.2015, Львів, 165–167.
 9. Гассо, В. Я., **Гагут, А. М.**, & Єрмоленко, С. В. (2018). Розповсюдження «червонокнижних» видів герпетофауни у центрально-степовому Придніпров'ї. Матеріали до 4-го видання Червоної книги України. *Тваринний світ*. Серія: «Conservation Biology in Ukraine». Київ, Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, 7(1), 178–179.
- Гассо, В. Я., **Гагут, А. М.**, & Єрмоленко, С. В. (2015). Біохімічні особливості крові звичайного вужа (*Natrix natrix*) в умовах екосистем із різним ступенем антропогенного навантаження. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах. Матеріали VIII міжнародної наукової конференції, 21–23.12.2015, Дніпро, 214–215.

Анотація

Гагут А. М. Еколого-біохімічні особливості фонових гігрофільних видів герпетофауни північно-степового Придніпров'я – На правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.16 – екологія. – Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, 2021.

Розглянуто популяційні особливості озерної жаби *Pelophylax ridibundus* та вужів *Natrix tessellata* і *N. natrix* у різних водних та навколводних екосистемах

долин річок Дніпро та Самара в умовах північно-степового Придніпров'я. Досліджено щільність населення та статеву структуру популяцій з різних антропогенно-трансформованих екосистем.

Визначено біохімічні параметри сироватки крові тварин з різних за ступенем техногенного навантаження екосистем. Статистично значущі відмінності виявлені для білкового складу крові вужів, ферментативної активності та деяких показників загального обміну речовин. У звичайних вужів, які живуть в антропогенно трансформованих екосистемах міста, зменшується вміст альбуміну в сироватці крові. У них підвищується активність лужної фосфатази, активність аланінамінотрансферази, але не змінюється активність аспартатамінотрансферази порівняно зі зміями контрольних біотопів. Тому знижується індекс де Рітиса, що може відбивати певні патологічні зміни у функціонуванні печінки вужів. У *Natrix tessellata* виявлені зміни в співвідношенні альбумінової та глобулінової фракції крові змій з зони впливу Придніпровської ТЕС. Визначено біохімічні показники сироватки крові самок, які змінюються під час вагітності. Отримані дані можуть використовуватися в якості референсних у подальших дослідженнях.

Досліджували вміст і прогностичне значення молекулярного цитоскелетного маркера гліального фібрилярного кислого білка (ГФКБ) в мозку тварин в умовах впливу промислового забруднення. Вивчено вміст ГФКБ філаментної (цитоскелет) і розчинної (цитозоль) фракцій. Характерне збільшення фрагментації ГФКБ визначено для видів із забруднених територій. Підвищення експресії білка гліальних проміжних філаментів свідчить про функціональну відповідь нейроглії на негативний вплив забруднення навколишнього середовища. Зростання рівня активних форм кисню як основної причини окисного стресу був визначений в мозку змій, які мешкають у антропогенно трансформованому середовищі. Таким чином, порушення цитоскелету астроцитів пов'язані з окислювально-відновним дисбалансом в мозку, викликаним забруднювачами довкілля.

Встановлено значне зростання вмісту реплікаційного білка А в клітинах мозку озерної жаби з забруднених біотопів, що вказує на істотну активацію процесів репарації ДНК пошкоджень. У той же час, виявлено збільшення вмісту активованої каспази-9. Відомо, що каспази запускають ланцюги апоптичної смерті клітин. Збільшення їх вмісту свідчить про індукцію апоптозу в клітинах мозку озерних жаб, які мешкають в умовах антропогенно трансформованих екосистем. Зазначені молекулярні маркери можуть бути валідними показниками токсичного впливу забруднювачів навколишнього середовища.

Ключові слова: водяний вуж, звичайний вуж, озерна жаба, щільність популяції, техногенний вплив, сироватка крові, біомаркери, гліальний фібрилярний кислий білок, окислювальний стрес.

Аннотація

Гагут А. Н. Эколого-биохимические особенности фоновых гидрофильных видов герпетофауны северо-степного Приднепровья – На

правах рукописи. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.16 – экология. – Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепр, 2021.

Изучена плотность населения и половая структура популяций озёрной лягушки *Pelophylax ridibundus* и двух видов ужей, *Natrix tessellata* и *N. natrix*, в экосистемах северо-степного Приднепровья.

У обыкновенных ужей из загрязнённых экосистем значительно снижается альбумин сыворотки крови. У них повышена активность аланинаминотрансферазы, но снижен коэффициент де Ритиса. Активность щелочной фосфатазы повышена, что указывает на определенные изменения в печени змей. У водяных ужей выявлено снижение соотношения альбумин / глобулин в условиях загрязнения экосистем. Определены биохимические показатели сыворотки крови беременных самок водяных ужей.

Изучены содержание и прогностическое значение молекулярного цитоскелетного маркера глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ) в мозге животных при влиянии промышленного загрязнения. Для особей, обитающих в загрязнённых экосистемах, отмечено характерное увеличение фрагментации ГФКБ и изменение соотношения растворимой фракции ГФКБ к цитоскелетной фракции. Кроме того, в головном мозге змей, обитающих в условиях загрязнения среды, обнаружено увеличение количества активных форм кислорода. Таким образом, нарушения цитоскелета астроцитов связаны с окислительно-восстановительным дисбалансом в головном мозге, вызванным интоксикацией. Обнаружено значительное увеличение содержания репликативного белка А и активированной каспазы-9 в клетках мозга озерных лягушек из загрязнённых местообитаний. Эти молекулярные маркеры могут быть надёжными индикаторами экотоксичности окружающей среды.

Ключевые слова: водяной уж, обыкновенный уж, озерная лягушка, плотность популяции, техногенное воздействие, сыворотка крови, биомаркеры, глиальный фибриллярный кислый белок, окислительный стресс.

Resume

Hahut A. M. Ecological and biochemical characteristics of common hygrophilic herpetofauna species of the north-steppe Dnieper River region – manuscript. Dissertation for the degree of candidate of biological sciences, specialty 03.00.16 – Ecology. – Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, 2021.

The population densities and sex structures of marsh frog *Pelophylax ridibundus*, dice snake *Natrix tessellata* and grass snake *N. natrix* were studied in the Dnieper River region.

In grass snakes from polluted ecosystems, the blood serum albumin significantly decreases. The alanine aminotransferase activity is increased in them, but the de Ritis ratio decreased. The alkaline phosphatase activity is increased, which indicates certain changes in the snake liver. In dice snakes a decrease in the albumin/globulin ratio for the polluted ecosystems were revealed. The biochemical parameters of the pregnant female blood serum were determined.

The content and prognostic value of the molecular cytoskeletal marker of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the brain of *P. ridibundus*, *N. tessellata* and *N. natrix* under the influence of industrial pollution were studied. A characteristic increase in the fragmentation of the GFAP was found for the studied species inhabited the contaminated areas. A significant anomaly was noted in the ratio of the soluble fraction of GFAP to the GFAP cytoskeletal fraction in individuals exposed to contaminants. In addition, an increase in the reactive oxygen species has been identified in the brain of snakes exposed to environmental toxicity. Thus, disturbances in the cytoskeleton of astrocytes are associated with redox imbalances in the brain caused by contaminants. A significant increase in the content of replication protein A and activated caspase-9 in the brain cells of the marsh frogs from contaminated habitats was found. These molecular markers can be valid indicators of the ecotoxicity of environmental pollutants.

Key words: dice snake, grass snake, marsh frog, population density, technogenic influence, blood serum, biomarkers, glial fibrillary acidic protein, oxidative stress.

Підписано до друку 12.03.2021.
Формат 60x84/16. Папір офсетний. Друк цифровий.
Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Замовлення № 045.

Видавництво та друкарня ПП «Ліра ЛТД».
вул. Наукова, 5, м. Дніпро, 49107.
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготовлювачів
та розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 6042 від 26.02.2018.

dnipro.lira@gmail.com | +38 (067) 561-57-05 | lira.dp.ua