

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай

АКАДЭМІі НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2018. Т. 63, № 2

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ

АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2018. Т. 63, № 2

Журнал основан в 1956 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 395 от 18 мая 2009 г.

*Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных
Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)*

Главный редактор

Михаил Ефимович Никифоров – Отделение биологических наук
Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Редакционная коллегия

- И. Д. Вологовский** (*заместитель главного редактора*) – Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
- В. И. Парфенов** (*заместитель главного редактора*) – Институт экспериментальной ботаники
имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
- В. Г. Колосовская** – *ведущий редактор журнала*
- А. Н. Евтушенко** – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
- А. В. Кильчевский** – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
- Э. И. Коломиец** – Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
- Н. А. Ламан** – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии
наук Беларуси, Минск, Беларусь

А. Г. Лобанок – Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
В. Е. Падутов – Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Беларусь
В. Н. Решетников – Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
В. В. Титок – Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
Л. В. Хотылева – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
С. Н. Черенкевич – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
Н. В. Шальго – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
В. М. Шкуматов – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Редакционный совет

В. Ф. Багинский – Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Гомель, Беларусь
А. Баршевский – Даугавпилский университет, Даугавпилс, Латвия
Я. Б. Блюм – Институт пищевой биотехнологии и геномики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
В. В. Валетов – Мозырский государственный педагогический университет имени И. П. Шамякина, Мозырь, Беларусь
В. Е. Гайдук – Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Брест, Беларусь
Ю. Ю. Дгебуадзе – Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия
Н. А. Колчанов – Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
В. В. Кузнецов – Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия
В. Олех-Пяэцка – Варшавский университет сельского хозяйства, Варшава, Польша
О. Н. Пугачев – Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
А. И. Рапопорт – Институт микробиологии и биотехнологии Латвийского университета, Рига, Латвия
И. А. Тихонович – Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия
Е. Е. Фесенко – Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пущино, Россия
В. В. Швартау – Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
Н. К. Янковский – Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Адрес редакции:

*ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, г. Минск, Республика Беларусь.
Тел.: +375 17 284-19-19; e-mail: biolvesti@mail.ru
Сайт: vestibio.belnauka.by*

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.

Серия биологических наук. 2018. Т. 63, № 2.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 11.04.2018. Выход в свет 27.04.2018. Формат 60×84^{1/8}. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 86 экз. Заказ 64.
Цена номера: индивидуальная подписка – 10,47 руб., ведомственная подписка – 25,45 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука».
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук, 2018

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2018, vol. 63, no. 2

The Journal was founded in 1956

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

The Journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus
in the State Registry of Mass Media, reg. no. 395

*The Journal is included in the List of Journals for Publication of the results
of Dissertation Research in the Republic of Belarus and in the database
of Russian Science Citation Index (RSCI)*

Editor-in-Chief

Mikhail E. Nikiforov – Department of Biological Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus

Editorial Board

Igor D. Volotovskii (*Associate Editor-in-Chief*) – Institute of Biophysics and Cell Engineering
of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Viktor I. Parfyonov (*Associate Editor-in-Chief*) – V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany
of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Valentina G. Kolosovskaya – *Managing Editor*

Sergey N. Cherenkevich – Belarusian State University, Minsk, Belarus

Anatoli N. Evtushenkov – Belarusian State University, Minsk, Belarus

Lyubov V. Khotyleva – Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus

Alexander V. Kilchevsky – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Emiliya I. Kolomiets – Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus

Nikolai A. Laman – V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences
of Belarus, Minsk, Belarus

Anatoli G. Lobanok – Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus

Vladimir E. Padutov – Institute of Forest of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus
Vladimir N. Reshetnikov – Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Nikolai V. Shalygo – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Vladimir M. Shkumatov – Belarusian State University, Minsk, Belarus
Vladimir V. Titok – Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Editorial Council

Vladimir F. Baginski – F. Skorina Gomel State University, Gomel, Belarus
Arvids Barsevskis – Daugavpils University, Daugavpils, Latvia
Yaroslav B. Blume – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine
Yuri Yu. Dgebuadze – A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
Vasiliy E. Gayduk – A. S. Pushkin Brest State University, Brest, Belarus
Nikolay A. Kolchanov – Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
Vladimir V. Kuznetsov – K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
Wanda Olech-Piasecka – Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Poland
Evgeniy E. Phesenko – Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
Oleg N. Pugachev – Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia
Alexander I. Rapoport – Institute of Microbiology and Biotechnology of University of Latvia, Riga, Latvia
Victor V. Schwartz – Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine
Igor A. Tikhonovich – All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Russia
Valentin V. Valetov – I. P. Shamyakin Mozyr State Pedagogical University (Republic of Belarus), Mozyr, Belarus
Nikolai K. Yankovski – Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Address of the Editorial Office:

*1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Phone: +375 17 284-19-19; e-mail: biolvesti@mail.ru
Website: vestibio.belnauka.by*

PROCEEDING OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.

Biological series, 2018, vol. 63, no. 2.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *Yu. A. Aheichyk*

Sent for press 11.04.2018. Output 27.04.2018. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 86 copies. Order 64.
Number price: individual subscription – 10,47 byn., departmental subscription – 25,45 byn.

Publisher and printing execution:

Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer,
distributor of printing editions no. 1/18 dated of August 2, 2013. License for press no. 02330/455 dated of December 30, 2013.
Address: F. Skorina Str., 40, 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series, 2018

ЗМЕСТ

Дорожук О. В., Калацкая Ж. Н., Ламан Н. А., Фролова Т. В., Шевцов Н. А., Овчинников И. А. Влияние обработки семян ячменя штаммами бактерий рода <i>Bacillus</i> на активность компонентов антиоксидантной системы в корнях проростков при солевом стрессе	135
Дубовец Н. И., Сычева Е. А., Дробот Н. И., Бондаревич Е. Б., Соловей Л. А., Силкова О. Г. Пребридинговая оценка рекомбинантных и интрогрессивных пшенично-ржаных гибридов по аллельному составу генов короткостебельности <i>Rht-B1</i> , <i>Rht-D1</i> , <i>Rht8</i> и <i>Ddw1</i>	146
Емельянова А. В., Обуховская Л. В., Аверина Н. Г. Фотосинтез и дыхание в растениях озимого рапса (<i>Brassica napus</i>), обогащенных антоцианами, под влиянием 5-аминолевулиновой кислоты	155
Прохоров В. Н. Аллелопатический потенциал адвентивных видов с высокой инвазионной активностью во флоре Беларуси	163
Сарнацкий В. В. Понятие «инвазионный вид» и современные аспекты интродукции, расселения и миграции растений в условиях Беларуси	171
Степура И. И., Лабор С. А., Шуриберко А. В., Степура В. И., Смирнов В. Ю., Янцевич А. В. Тиаминная активность оксоферрильных форм миоглобина	176
Рупасова Ж. А., Яковлев А. П., Савосько И. В., Кабашникова Л. Ф., Лиштван И. И. Влияние удобрений и стимуляторов роста на содержание фотосинтезирующих пигментов в растениях голубики, культивируемых на выработанных торфяных месторождениях низинного типа	188
Залеская Г. А., Насек В. М., Зильберман Р. Д. Реакция периферической крови экспериментальных животных на комбинированное воздействие низкоинтенсивного лазерного и γ -излучения	201
Скрыльник Е. В., Шевченко Н. В., Попирный М. А., Николов О. Т. Конформационные перестройки супраструктуры гуминовых кислот чернозема типичного в зависимости от способов обработки почвы	209
Бессонова В. П., Криворучко А. П. Показатели водного обмена листьев дуба <i>Quercus robur</i> L. и <i>Quercus rubra</i> L. в различных условиях произрастания в северной подзоне степи Украины	222

АГЛЯДЫ

Абашкин В. М., Дмитрук О. Г., Щербин Д. Г. Малые некодирующие РНК: биологическая роль и биомедицинское применение	232
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Любовь Владимировна Хотылева (К юбилею)	245
Аверина Н. Г., Кабашникова Л. Ф., Шалыго Н. В., Волотовский И. Д. Научные достижения белорусской фотосинтетической школы: история и перспективы (к 200-летию открытия хлорофилла)	248

CONTENTS

Doroshchuk O. V., Kalatskaja J. N., Laman N. A., Frolova T. V., Shevtsov N. A., Ovchinnikov I. A. Influence treatment of barley seeds by genus bacteria <i>Bacillus</i> on activity of components of the antioxidative system in roots of seedlings under salt stress.....	135
Dubovets N. I., Sycheva Y. A., Drobot N. I., Bondarevich Y. B., Solovey L. A., Silkova O. G. Prebreeding assessment of dwarfing genes <i>Rht-B1</i> , <i>Rht-D1</i> , <i>Rht8</i> and <i>Ddw1</i> allelic composition in recombinant and introgressive wheat-rye hybrides	146
Yemelyanova H. V., Obukhovskaya L. V., Averina N. G. Photosynthesis and respiration in winter rape plants (<i>Brassica napus</i>) enriched with anthocyanin's under influence of 5-aminolevulinic acid.....	155
Prokhorov V. N. Allelopathic potential of adventive species with high invasive activity in flora of Belarus.....	163
Sarnatsky V. V. The concept of "invasion species" and modern aspects of introduction, planning and migration of plants in conditions of Belarus.....	171
Stepuro I. I., Labor S. A., Shuryberka A. V., Stsiapura V. I., Smirnov V. Yu., Yantsevich A. V. Thiaminase activity of myoglobin oxoferryl forms.....	176
Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Savosko I. V., Kabashnikova L. F., Lishtvan I. I. Effect of fertilizers and growth stimulators on the content of photosynthetic pigments in blueberry plants cultivated on developed low-lying peat deposits	188
Zalesskaya G. A., Nasek V. M., Zilberman R. D. The reaction of peripheral blood of experimental animals to combined effects of low-intensity laser and γ -radiation.....	201
Skrylnik E. V., Shevchenko N. V., Popirny M. A., Nikolov O. T. Conformational restructures of superstructure of humic acids of chernozem typical in dependence by soil tillage.....	209
Bessonova V. P., Kryvoruchko A. P. Indicators of water exchange of leaves of oak <i>Quercus robur</i> L. and <i>Quercus rubra</i> L. in various growing conditions in the northern subzone of the steppe of Ukraine.....	222

REVIEWS

Abashkin V., Dzmitruk V., Shcharbin D. Small non-coding RNA: biological functions and biomedical application.....	232
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

SCIENTISTS OF BELARUS

Lyubov Vladimirovna Khotyleva (To the jubilee).....	245
Averina N. G., Kabashnikova L. F., Shalygo N. V., Volotovskii I. D. Scientific achievements of the Belarus photosynthetic school: history and prospects (to the 200th anniversary of opening chlorophyll).....	248

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.143:579.64:631.811.98

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-135-145

Поступила в редакцию 14.12.2017

Received 14.12.2017

**О. В. Дорошук, Ж. Н. Калацкая, Н. А. Ламан, Т. В. Фролова,
Н. А. Шевцов, И. А. Овчинников**

*Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ РОДА BACILLUS НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Аннотация. Изучена активность компонентов антиоксидантной системы в корнях проростков ячменя в условиях солевого стресса при обработке семян пятью штаммами спорообразующих бактерий рода *Bacillus*. Полученные данные позволяют сделать вывод о повышении устойчивости к засолению (4 %-ный раствор хлорида натрия, 24 ч) корневой системы проростков ячменя, проявляющейся в поддержании скорости роста и развития корней при действии штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* (*B. am.*) 78 ТМ, *Bacillus subtilis* (*B. s.*) 7 МР и *B. s.* М 9/6 в концентрации 10^5 клеток/мл. Защитное действие штамма *B. am.* 78 ТМ сопровождается значительной аккумуляцией пролина, а в восстановительный период – накоплением пероксида водорода и активизацией супероксиддисмутазы и пероксидазы. Протекторное действие штаммов *B. s.* М 9/6 и *B. s.* 7 МР обусловлено, на наш взгляд, значительным накоплением пероксида водорода и активацией антиоксидантных ферментов в условиях стресса, а в период адаптации – сохранением повышенного содержания перекиси в сравнении с таковым в стрессовом контроле.

Ключевые слова: бактерии рода *Bacillus*, солевой стресс, ячмень, пролин, общая пероксидаза, супероксиддисмутаза, пероксид водорода

Для цитирования: Влияние обработки семян ячменя штаммами бактерий рода *Bacillus* на активность компонентов антиоксидантной системы в корнях проростков при солевом стрессе / О. В. Дорошук [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 135–145. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-135-145

O. V. Doroshchuk, J. N. Kalatskaja, N. A. Laman, T. V. Frolova, N. A. Shevtsov, I. A. Ovchinnikov

*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

INFLUENCE TREATMENT OF BARLEY SEEDS BY GENUS BACTERIA BACILLUS ON ACTIVITY OF COMPONENTS OF THE ANTIOXIDATIVE SYSTEM IN ROOTS OF SEEDLINGS UNDER SALT STRESS

Abstract. It has been studied the activity components of the antioxidative system in barley roots to five strains bacteria *Bacillus* genus treatment of seeds under salt stress. The data obtained allow to conclude that the higher resistance to salinity (4 % NaCl solution, 24 h) the root system of barley seedlings, which manifests itself in maintaining the speed of growth and development of roots under the action of *Bacillus amyloliquefaciens* (*B. am.*) 78 ТМ, *Bacillus subtilis* (*B. s.*) 7 МР and *B. s.* М 9/6 at a concentration of 10^5 cells/ml. The protective effect of strain *B. am.* 78 ТМ accompanied by a significant accumulation of proline, and in the recovery period the accumulation of hydrogen peroxide and increased superoxide dismutase and peroxidase. The protective action of strains of *B. s.* М 9/6 and *B. s.* 7 МР is due, in our opinion, significant accumulation of hydrogen peroxide and activation of antioxidant enzymes under stress, and in the period of adaptation the preservation of the high content of hydrogen peroxide compared with stress control.

Keywords: bacteria *Bacillus* genus, salt stress, barley, proline, total peroxidase, superoxide dismutase, hydrogen peroxide

For citation: Doroshchuk O. V., Kalatskaja J. N., Laman N. A., Frolova T. V., Shevtsov N. A., Ovchinnikov I. A. Influence treatment of barley seeds by genus bacteria *Bacillus* on activity of components of the antioxidative system in roots of seedlings under salt stress. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 135–145 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-135-145

Введение. Основными абиотическими стрессами, ограничивающими рост и продуктивность сельскохозяйственных культур, являются засуха и засоление [1, 2]. Как правило, корневая система первой подвергается засолению. Высокие концентрации Na^+ и/или Cl^- в почве вызывают у растений осмотический стресс, обусловленный резким падением водного потенциала корнеобитаемой среды, а избыточное поступление их в клетки сдвигает ионный баланс, нарушает многие физиологические и биохимические процессы [3]. Осмотический стресс наступает

сразу же после повышения концентрации солей в почвенном растворе, что приводит к цепи последовательных событий – ограничению поступления воды и нутриентов, прямому ингибированию деления и растяжения клеток и, в конечном итоге, к замедлению роста корней [4, 5]. Вторая фаза негативного влияния солей, наступающая через несколько дней, обусловлена накоплением в клетках солей и ряда промежуточных продуктов, вызывающих отравление растений [3, 6]. Кроме того, высокие концентрации Na^+ и/или Cl^- в клетках способствуют избыточной генерации активных форм кислорода (АФК), в том числе наиболее стабильного и способного диффундировать от места образования пероксида водорода [7]. Нарушение внутриклеточного баланса между про/антиоксидантными системами оказывает негативное воздействие на все жизненно важные процессы в клетке [8–10]. Формирование устойчивости к окислительному стрессу рассматривается в качестве одного из компонентов солеустойчивости [11].

С другой стороны, корневая система является экологической нишей для почвенных и ризосферных микроорганизмов, образуя с ними как внутри, так и на поверхности ткани корней сложные по таксономическому составу и структурно-функциональной организации ассоциации, оказывающие на растения полифункциональное воздействие [12]. Известно, что в растительно-микробных ассоциациях ризобактерии, в том числе из рода *Bacillus*, и их метаболиты способны стимулировать рост и развитие растений, а также повышать устойчивость организмов к биотическим и абиотическим стресс-факторам, включая воздействие на растения засоления [13–15]. Однако до сих пор полностью не выяснены механизмы функционирования антиоксидантной системы в корнях растений при воздействии ростстимулирующих микроорганизмов в условиях засоления [16–18].

Цель работы – изучение активности компонентов антиоксидантной системы в корнях проростков ячменя при обработке их семян штаммами спорообразующих бактерий рода *Bacillus* в условиях засоления и в восстановительный период.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили проростки ярового ячменя сорта Батка. В работе использованы выделенные из почвы штаммы спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* (*B. s.*) 10/19, *B. s.* 7 МР, *B. s.* М 9/6, *Bacillus amyloliquefaciens* (*B. am.*) 78 ТМ, *B. am.* 23 ТМ, проявляющие высокую антагонистическую активность к широкому спектру фитопатогенов. Условия культивирования бактерий детально изложены в работе [19].

Стерилизованные семена ячменя в течение 3 ч замачивали в водных растворах, содержащих клетки и споры штаммов бактерий в культуральной жидкости, доведенных до концентрации 10^5 клеток/мл, а затем проращивали в рулонах в термостате до появления всходов, после чего переносили в световые камеры с освещенностью 13–15 тыс. лк (контролем служили необработанные семена). Часть 5-суточных проростков на 24 ч помещали в 4 %-ный раствор NaCl, затем снова в воду. Морфологические и биохимические параметры растений измеряли непосредственно после действия стрессора (6-дневные проростки) и на 4-е сутки после его отмены (10-дневные проростки). Содержание пролина определяли по методу Bates с соавт. [20], общую активность растворимой пероксидазы оценивали по Бояркину [21], используя в качестве хромогенного субстрата бензидин. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по методу, основанному на способности нитросинего тетразолия конкурировать с СОД за супероксидные радикалы, образующиеся в результате светоиндуцируемой реакции рибофлавина с метионином [22]. Содержание белка оценивали по методу Брэдфорд [23], перекиси водорода – по методу с использованием красителя ксиленовый оранжевый [24], окрашенных тиобарбитуровой кислотой (ТБК) продуктов ПОЛ – по методу, основанному на получении окрашенного комплекса МДА с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) при нагревании [25].

Статистическую обработку данных осуществляли общепринятыми методами [26]. В работе приведены средние значения и их отклонения, указывающие на величину стандартной ошибки средней арифметической.

Результаты и их обсуждение. Анализ физиологических особенностей современных сортов, способных давать высокие урожаи при стрессе, показал, что устойчивость у них сочетается с относительно высокой скоростью роста в условиях засухи [27]. С агрономической точки зрения в основе урожайности растений при стрессе лежит способность растений поддерживать рост. Важная роль в условиях дефицита воды и элементов минерального питания отводится корневой системе [28].

В проведенном опыте действие стрессовых условий вызвало торможение роста и развития корневой системы относительно оптимального контроля (см. таблицу). Бактеризация семян изучаемыми штаммами, за исключением *B. s. 10/19*, уменьшала негативное воздействие стрессора, что проявлялось в поддержании скорости роста корней, а также в накоплении ими биомассы.

Морфометрические показатели проростков ячменя
Morphometric parameters of barley seedlings

Вариант опыта	Длина корней, мм		Масса корней, г	
	6-дневные проростки	10-дневные проростки	6-дневные проростки	10-дневные проростки
Контроль	173 ± 2,8	191 ± 4,6	0,124 ± 0,007	0,145 ± 0,010
Контроль стресс	133 ± 3,7 ^a	139 ± 3,8 ^a	0,089 ± 0,003 ^a	0,098 ± 0,004 ^a
<i>B. am. 78 TM</i>	147 ± 2,6 ^{ab}	151 ± 2,6 ^{ab}	0,107 ± 0,004 ^{ab}	0,117 ± 0,006 ^{ab}
<i>B. am. 23 TM</i>	150 ± 2,6 ^{ab}	153 ± 2,2 ^{ab}	0,108 ± 0,004 ^{ab}	0,111 ± 0,005 ^a
<i>B. s. 7 MP</i>	148 ± 2,5 ^{ab}	153 ± 2,1 ^{ab}	0,095 ± 0,003 ^a	0,106 ± 0,006 ^a
<i>B. s. M 9/6</i>	150 ± 2,3 ^{ab}	153 ± 2,7 ^{ab}	0,109 ± 0,004 ^{ab}	0,128 ± 0,007 ^b
<i>B. s. 10/19</i>	139 ± 4,3 ^a	146 ± 3,0 ^a	0,091 ± 0,005 ^a	0,092 ± 0,007 ^a
НСР ₀₅	8	9	0,013	0,018

Примечание. Различия достоверны с вероятностью более 95 %: ^a – по сравнению с контролем; ^b – по сравнению со стрессовым контролем.

Защитное действие штаммов *B. am. 78 TM*, *B. s. M 9/6* и в меньшей степени *B. s. 7 MP* в течение восстановительного периода привело к формированию проростков с более развитой корневой системой.

Ключевая роль в решении растением проблем осморегуляции в условиях засоления принадлежит совместимым осмолитам, к которым относятся такие органические соединения, как пролин, бетаины, сахара, сахаро-спирты и белки позднего эмбриогенеза (LEA) [29]. Содержание пролина многократно возрастает при действии абиотических факторов, инициирующих развитие у растений водного дефицита.

В ходе исследований выявлено значительное повышение накопления пролина в корнях при стрессовых условиях по сравнению с оптимальным контролем (на 26,9 %), а относительно стрессового контроля тенденция к увеличению содержания пролина отмечалась во всех опытных вариантах, кроме варианта, когда семена обрабатывались *B. s. M 9/6*. Наиболее значимым (на 17,1 %) было увеличение после обработки семян штаммом *B. am. 78 TM* (рис. 1).

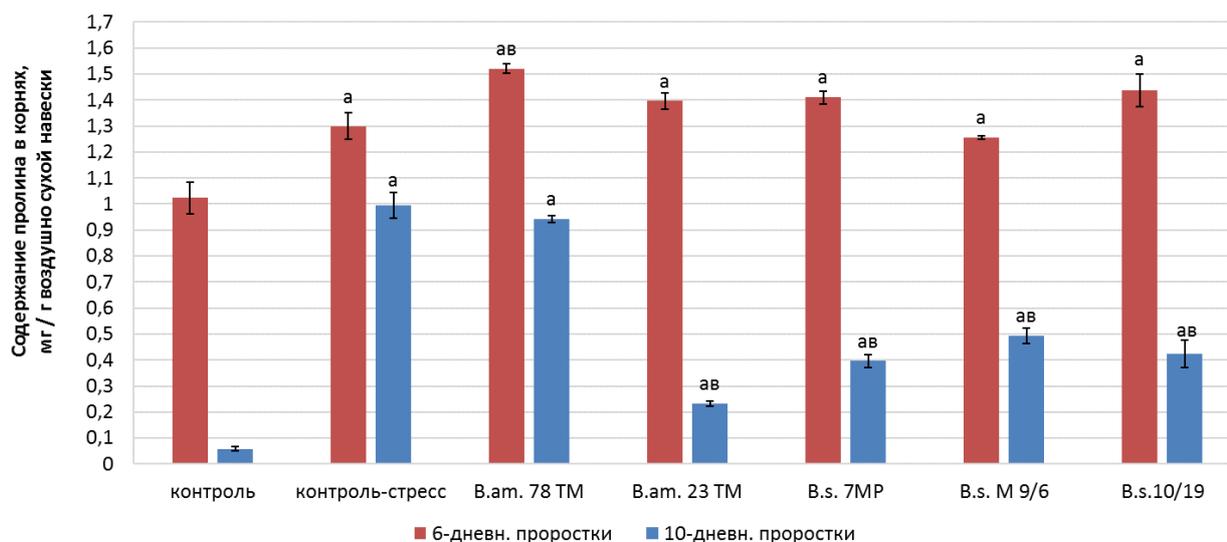


Рис. 1. Содержание пролина в корнях проростков ячменя. На рис. 1–3 различия достоверны с вероятностью более 95 %: ^a – по сравнению с контролем; ^b – по сравнению со стрессовым контролем

Fig. 1. The proline content in roots of barley seedlings. In fig. 1–3 differences significant with a probability of more than 95 %: ^a – compared to control; ^b – compared to stress control

В литературных источниках имеются сведения о влиянии ризосферных микроорганизмов на аккумуляцию пролина в растениях. Так, внедрение гена *proBA*, полученного из *Bacillus subtilis*, в геном *A. thaliana* привело к увеличению уровня свободного пролина у трансгенных растений, что проявилось в повышении их толерантности к осмотическому стрессу [30]. У солеустойчивых растений *Zea mays*, инокулированных *Rhizobium* и *Pseudomonas* [31], увеличение содержания пролина сопровождалось снижением выхода электролитов из тканей, поддержанием оводненности тканей листьев и селективным поглощением ионов калия.

Способность тканей корней к биосинтезу пролина очень низкая, и в органы интактных проростков последний транспортируется из эндосперма [32]. У 10-дневных проростков, уже перешедших на автотрофное питание, пул аминокислот эндосперма истощен, поэтому в оптимальных условиях уровень пролина в корнях был практически в 17 раз ниже, чем у 6-дневных проростков контрольного варианта. В адаптационный период содержание пролина по сравнению со стрессовым контролем уменьшилось, однако значительно интенсивнее это снижение было при использовании всех вариантов обработки. Только при обработке семян штаммом *B. am.* 78 ТМ аккумуляция пролина соответствовала таковой при стрессовом контроле.

Одним из критериев оценки уровня окислительного стресса является интенсивность накопления малонового диальдегида (МДА) – продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ). Также известно, что пероксид водорода как сигнальный посредник задействован в активизации многих адаптивных реакций растений, в том числе необходимых для развития устойчивости к солевому стрессу [33, 34]. В частности, H_2O_2 участвует не только в активации системы антиоксидантной защиты, но и в индуцировании накопления совместимых осмолитов, а также в регуляции Na^+/K^+ -гомеостаза в растительных клетках [34]. Вместе с тем в литературных источниках встречаются противоречивые сведения о содержании перекиси водорода в корнях растений при солевом стрессе [18]: одни исследователи наблюдали увеличение содержания пероксида, другие не обнаружили изменения уровня его накопления либо регистрировали его снижение. В нашем исследовании после 24 ч воздействия засоления отмечено снижение содержания пероксида водорода в корнях растений на 28,2 %, а ТБК-продуктов ПОЛ практически в 2 раза (рис. 2, 3).

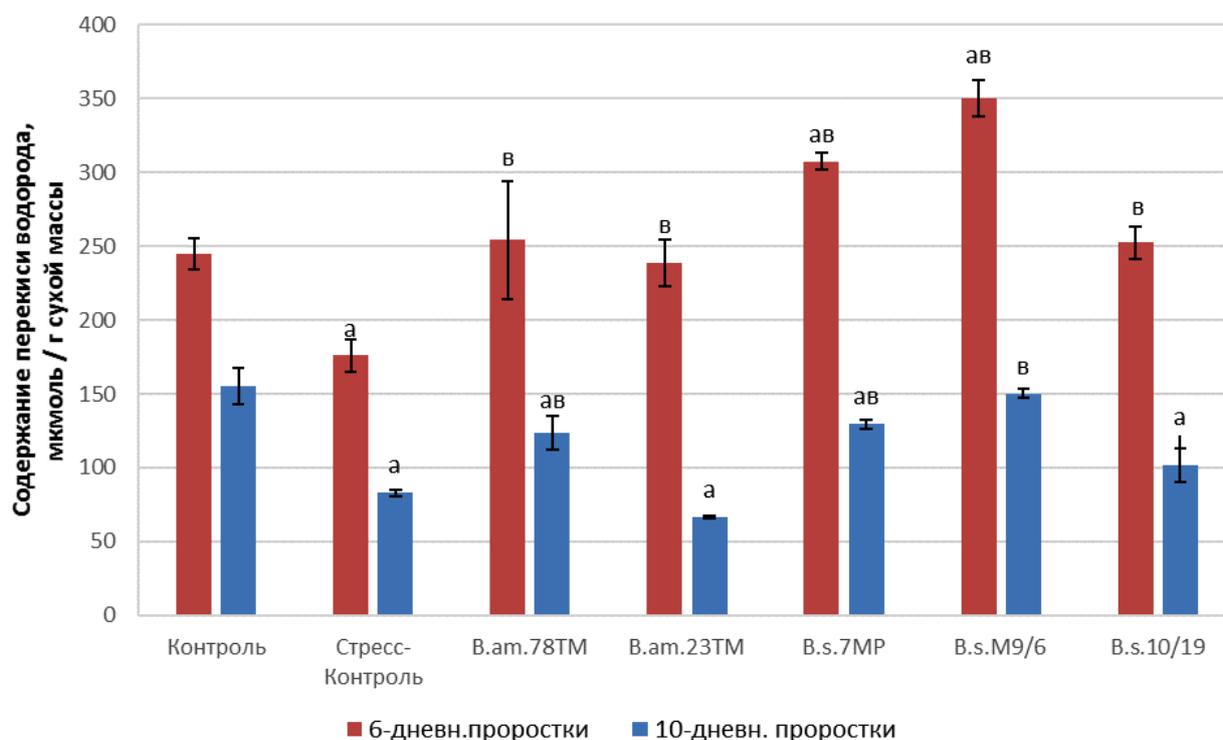


Рис. 2. Содержание перекиси водорода в корнях растений ячменя

Fig. 2. The hydrogen peroxide content in roots of barley seedlings

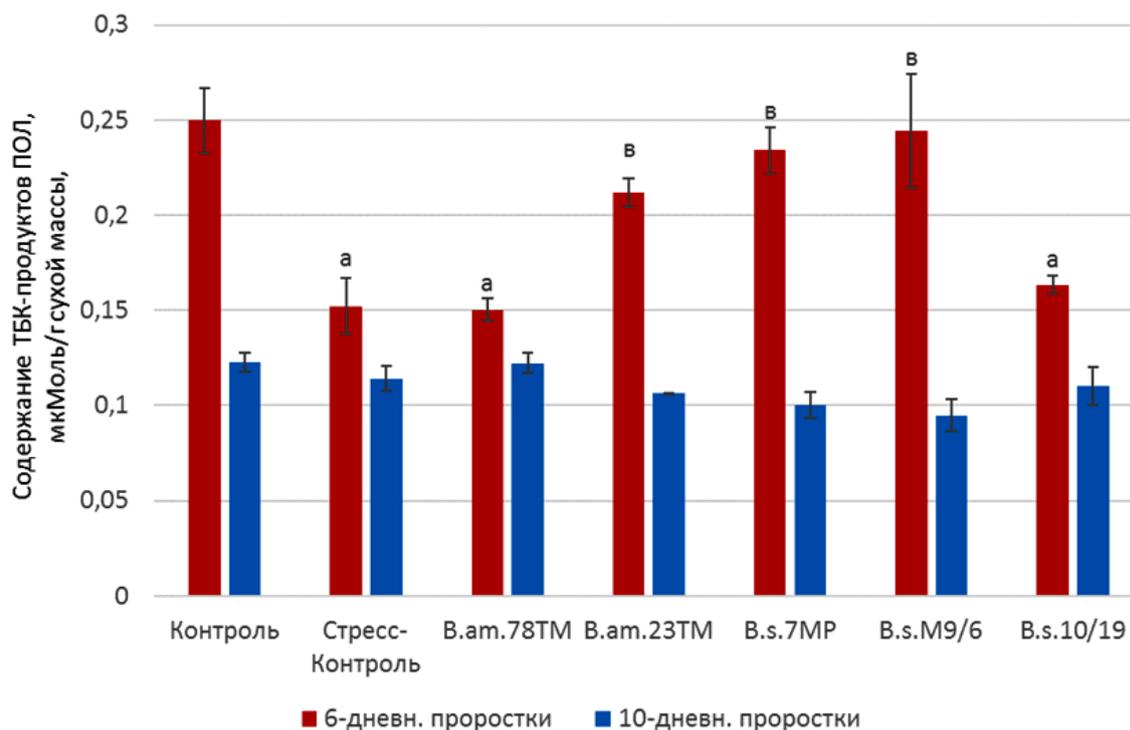


Рис. 3. Содержание ТБК-продуктов ПОЛ в корнях растений ячменя

Fig. 3. The TBA-reactive-substances of lipid peroxidation content in roots of barley seedlings

Полученные нами результаты сходны с данными работы [35], согласно которым содержание перекиси водорода в корнях ячменя снижается на 30–50 % в течение первых двух дней засоления 200 мМ раствором хлорида натрия. Вероятнее всего, в нашем исследовании увеличение интенсивности накопления перекиси водорода и продуктов ПОЛ в контрольном варианте произошло ранее, чем были проведены измерения.

Косвенным подтверждением этому являются приведенные в работе [36] данные о небольшом увеличении содержания пероксида водорода в листьях, а также о незначительном его повышении в корнях уже через 30 мин после засоления (500 мМ NaCl в течение 6 ч). Через 1,5 ч H_2O_2 регистрировали только в листьях проростков проса, причем уровень его снижался, приближаясь к оптимальному контролю. В работе [18] при использовании нескольких концентраций NaCl и периодов засоления установлено, что перекись водорода быстро накапливается в течение первых 24 ч стресса, но на высоком уровне поддерживается только при длительном периоде засоления и высоких концентрациях соли. В работе [37] также показано, что под действием NaCl уровень ПОЛ в листьях и корнях шалфея увеличивался в первые 15 ч, затем интенсивность накопления ПОЛ в корнях снижалась, а содержание перекиси водорода существенно не изменялось.

Под воздействием штаммов *V. am.* 78 ТМ, *V. s.* 10/19 и *V. s.* 23 ТМ (рис. 2, 3) содержание пероксида в корнях было выше, чем в стрессовом контроле, но на уровне оптимального контроля, а накопление продуктов ПОЛ оставалось на уровне стрессового контроля при обработке растений *V. am.* 78 ТМ и *V. s.* 10/19. Значительное количество перекиси водорода аккумулировалось при обработке штаммами *V. s.* 7 МР и особенно *V. s.* М 9/6 – на 25,4 и 42,9 % соответственно больше по отношению к оптимальному контролю и на 74,7 и 99,0 % больше по отношению к стрессовому контролю. Примечательно, что при обработке растений *V. s.* М 9/6 не выявлено накопления пролина. При применении этих же вариантов обработки, а также при обработке штаммом *V. s.* 23 ТМ содержание ТБК-продуктов оставалось на уровне оптимального контроля.

В постстрессовый период содержание перекиси водорода снизилось при использовании всех вариантов обработки, в стрессовом контроле ее было меньше практически в 2 раза в сравнении

с таковым у 6-дневных проростков. Однако при использовании *B. am.* 78 ТМ, *B. s.* 7 МР и *B. s.* М 9/6 содержание перекиси в тканях корней на 48,9; 55,9 и 80,6 % больше, чем в стрессовом контроле. Причем если при действии штаммов *B. am.* 78 ТМ и *B. s.* 7 МР оно было ниже оптимального контроля, то на фоне *B. s.* М 9/6 содержание пероксида поддерживалось на уровне оптимального контроля. Содержание ТБК-продуктов ПОЛ было одинаковым во всех вариантах опыта.

В ответ на выработку АФК в растениях активируется система антиоксидантной защиты, включающая и антиоксидантные ферменты. Солевой стресс, действующий на проростки ячменя в течение суток, вызывал увеличение активности пероксидазы и СОД в корнях растений (рис. 4, 5). Значительное увеличение активности антиоксидантных ферментов относительно стрессового контроля происходило при обработке семян штаммами *B. s.* 7 МР, *B. s.* М 9/6, при этом отмечены и самые высокие уровни содержания перекиси. При обработке семян штаммами *B. am.* 78 ТМ и *B. s.* 10/19 активность СОД, напротив, была ниже, чем в корнях проростков из оптимального контроля, а активность пероксидазы приближалась к значениям оптимального контроля.

Установлено [37], что у растений с высокой пролин-аккумулялирующей способностью активность СОД минимальна, и наоборот. Приводятся также сведения, что экзогенный пролин способен модифицировать экспрессию генов СОД [38, 39] или снимать эффект транзиторного повышения пероксида водорода, наблюдавшийся после закаливающего воздействия [10]. Выявленное наиболее высокое содержание пролина при обработке семян штаммами *B. am.* 78 ТМ и *B. s.* 10/19, вероятно, указывает на имеющий место в этом случае эффект «реципрокной координации» между содержанием пролина и активностью СОД.

В постстрессовый период активность СОД в корнях проростков из стрессового контроля снизилась, а активность пероксидазы оставалась на 11,4 % выше уровня оптимального контроля. При обработке штаммами *B. s.* 7 МР и *B. s.* М 9/6 наблюдалось значительное увеличение активности ферментов при засолении, а в постстрессовый период – снижение их активности. При этом активность СОД была выше на 42,7 и 43,8 % соответственно, а активность пероксидазы оставалась на уровне стрессового контроля. Напротив, штаммы *B. am.* 78 ТМ и *B. s.* 10/19, не оказывающие влияния на активность фермента при стрессе, в период адаптации способствовали увеличению активности энзимов практически в 2 раза. При обработке штаммом *B. am.* 23 ТМ активность СОД была высокой в течение всего эксперимента, а активность пероксидазы возрастала в период адаптации.

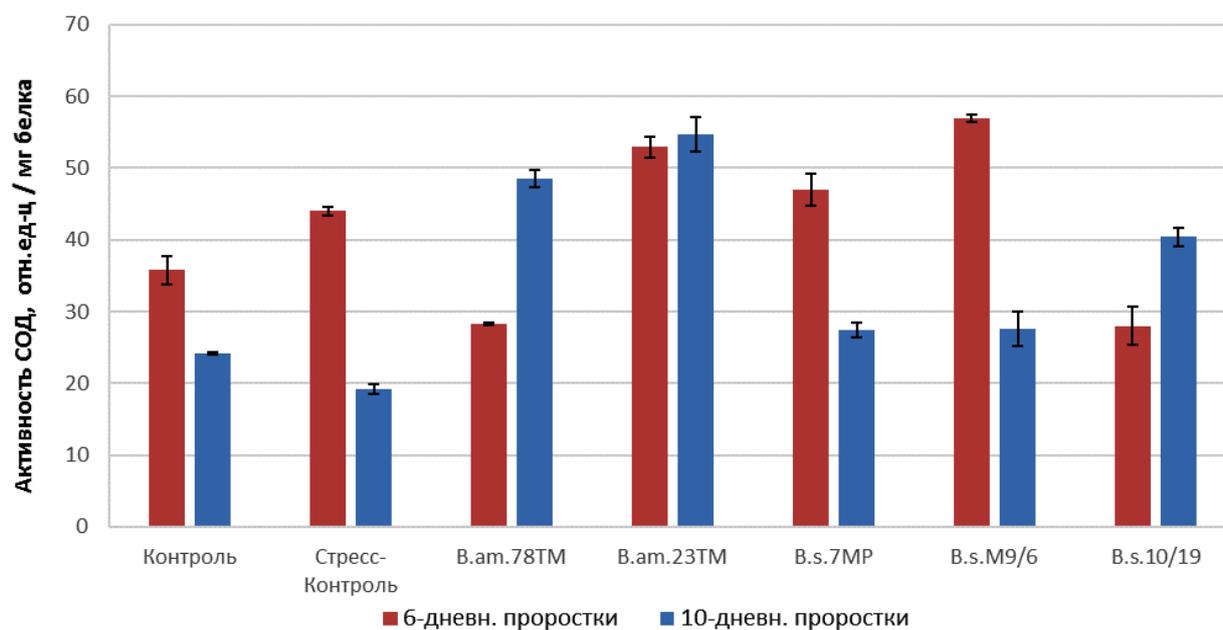


Рис. 4. Активность СОД в корнях растений ячменя

Fig. 4. Superoxide dismutase activity in roots of barley seedlings

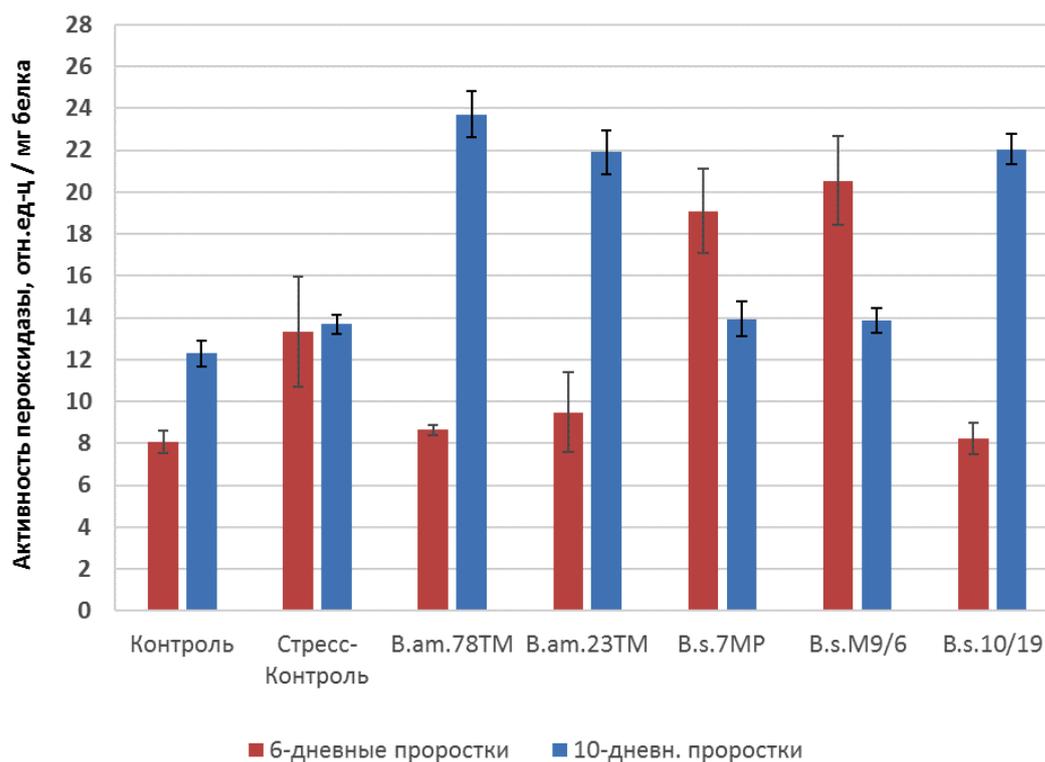


Рис. 5. Активность пероксидазы в корнях растений ячменя

Fig. 5. Peroxidase activity in roots of barley seedlings

Заклучение. Действие 4 %-ного раствора хлорида натрия в течение суток на растения ячменя на начальных этапах онтогенеза вызвало торможение роста и развития корневой системы проростков на фоне увеличения накопления пролина и активации антиоксидантных ферментов (СОД и растворимой пероксидазы). В то же время выявлено снижение содержания перекиси водорода и продуктов пероксидации липидов. Вероятно, накопление АФК происходит на более ранних этапах действия стрессора. В период восстановления (через 4 сут после отмены повреждающего действия засоления) наблюдали сохранение высокого уровня пролина и активности пероксидазы в корнях и, напротив, низкую активность СОД, при этом содержание перекиси водорода было в 2 раза ниже, чем в условиях стресса.

Действие штаммов *V. am.* 78 ТМ, *V. s.* М 9/6 и в меньшей степени *V. s.* 7 МР проявлялось в поддержании скорости роста корней, а также в накоплении ими биомассы, что привело к формированию проростков с более развитой корневой системой. Однако на биохимическом уровне выявлено несколько различное действие штаммов в условиях засоления. Так, штамм *V. am.* 78 ТМ в условиях стресса вызывал значительное накопление осмотически активного соединения – пролина, а протекторное действие штаммов *V. s.* М 9/6 и *V. s.* 7 МР было обусловлено в первую очередь активацией антиоксидантных ферментов и значительным накоплением пероксида водорода. В адаптационный период при всех вариантах опыта сохранялось повышенное содержание перекиси в сравнении со стрессовым контролем, содержание пролина при действии штамма *V. am.* 78 ТМ оставалось на уровне стрессового контроля, а активность ферментов возрастала, тогда как при обработке *V. s.* М 9/6 и *V. s.* 7 МР аккумуляция пролина и активность ферментов снижались.

В постстрессовый период обнаружено сходство действия штаммов *V. s.* 10/19 и *V. s.* 23 ТМ, которые не оказали значимого защитного влияния на корневую систему проростков, где выявлено уменьшение накопления пролина и увеличение активности ферментов при уровнях содержания перекиси водорода и продуктов ПОЛ, близких к значениям стрессового контроля.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о повышении устойчивости к засолению (4 %-ный раствор хлорида натрия, 24 ч) корневой системы проростков ячменя, про-

являющейся в поддержании скорости роста и развития корней при действии штаммов *B. am.* 78 ТМ, *B. s.* 7 МР и *B. s.* М9/6 в концентрации 10^5 клеток/мл. Защитное действие штамма *B. am.* 78 ТМ сопровождается значительной аккумуляцией пролина, а в восстановительный период – накоплением пероксида и активизацией СОД и пероксидазы. Протекторное действие штаммов *B. s.* М9/6 и *B. s.* 7 МР обусловлено, на наш взгляд, значительным накоплением пероксида водорода и активацией антиоксидантных ферментов в условиях стресса, а в период адаптации – сохранением повышенного содержания перекиси водорода в сравнении с таковым при стрессовом контроле.

Благодарности. Выражаем благодарность сотрудникам лаборатории средств биологического контроля Института микробиологии НАН Беларуси за предоставленные для исследования штаммы бактерий.

Acknowledgements. We express our gratitude to the colleagues from the laboratory of Biological control agents of Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus for provided study strains of bacteria.

Список использованных источников

1. Rengasamy, P. World salinization with emphasis on Australia / P. Rengasamy // J. of Experimental Botany. – 2006. – Vol. 57, N 5. – P. 1017–1023.
2. Flowers, T. J. Salinity tolerance in halophytes / T. J. Flowers, T. D. Colmer // New Phytologist. – 2008. – Vol. 179, N 4. – P. 945–963.
3. Munns, R. Mechanisms of salinity tolerance / R. Munns, M. Tester // Annu. Rev. of Plant Biology. – 2008. – Vol. 59. – P. 651–681.
4. Geissler, N. Interactive effects of NaCl salinity and elevated atmospheric CO₂ concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte *Aster tripolium* L. / N. Geissler, S. Hussin, H.-W. Koyro // Environmental and Experimental Botany. – 2009. – Vol. 65, N 2–3. – P. 220–231.
5. Munns, R. Comparative physiology of salt and water stress / R. Munns // Plant Cell and Environment. – 2002. – Vol. 25, N 2. – P. 239–250.
6. Salinity Stress and Salt Tolerance [Electronic resource] / P. Carillo [et al.] // Abiotic stress in plants – Mechanisms and adaptations / ed. : A. Shanker, B. Venkateswarlu. – 2011. – Mode of access : <https://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-in-plants-mechanisms-and-adaptations/salinity-stress-and-salt-tolerance>. – Date of access : 26.08.2017.
7. Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance / R. Mittler // Trends in Plant Science. – 2002. – Vol. 7, N 9. – P. 406–410.
8. Koyro, H.-W. Survival at extreme locations: Life strategies of halophytes / H.-W. Koyro, N. Geissler, S. Hussin // Salinity and water stress / ed. : M. Ashraf, M. Ozturk, H. R. Athar. – Dordrecht, 2009. – P. 167–177.
9. Parida, A. K. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review / A. K. Parida, A. B. Das // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2005. – Vol. 60, N 3. – P. 324–349.
10. Колупаев, Ю. Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений / Ю. Е. Колупаев // Успехи соврем. биологии. – 2016. – Т. 136, № 2. – С. 181–198.
11. Ху, Ю. Ф. Ферменты антиоксидантной защиты и физиологические характеристики двух сортов топинамбура при солевом стрессе / Ю. Ф. Ху, Ж. П. Лиу // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 6. – С. 863–868.
12. Взаимодействие ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов (обзор) / А. И. Шапошников [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 3. – С. 16–22.
13. Повышение устойчивости пшеницы к абиотическим стрессам эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* / Р. М. Хайруллин [и др.] // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. – 2007. – № 2. – С. 129–134.
14. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам / И. В. Максимов [и др.] // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763–775.
15. Kasim, W. A. Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley / W. A. Kasim [et al.] // Annals of Agr. Science. – 2016. – Vol. 61, N 2. – P. 217–227.
16. Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions / S. K. Upadhyay [et al.] // Plant Biology. – 2011. – Vol. 14, N 4. – P. 605–611.
17. Dodd, I. C. Microbial amelioration of crop salinity stress / I. C. Dodd, F. Pérez-Alfocea // J. of Experimental Botany. – 2012. – Vol. 63, N 9. – P. 3415–3428.
18. A different role for hydrogen peroxide and antioxidative system under short and long salt stress in *Brassica oleracea* roots / M. Hernandez [et al.] // J. of Experimental Botany. – 2010. – Vol. 61, N 2. – P. 521–535.
19. Влияние композиций на основе бактерий-антагонистов рода *Bacillus* и фитогормонов на устойчивость проростков ячменя при солевом стрессе / Ж. Н. Калацкая [и др.] // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / редкол. : Э. И. Коломиец (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2017. – Т. 9. – С. 183–190.
20. Bates, L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies / L. S. Bates, R. P. Waldren, J. D. Teare // Plant and Soil. – 1973. – Vol. 39, N 1. – P. 205–207.
21. Ермаков, А. И. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков [и др.] ; под ред. А. И. Ермакова. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л. : Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. – 429 с.
22. Giannopolitis, C. N. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants / C. N. Giannopolitis, S. K. Ries // Plant Physiology. – 1977. – Vol. 73, N 2. – P. 627–650.

23. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – Vol. 2, N 1–2. – P. 248–254.
24. Extracellular H₂O₂ induced by oligogalacturonides is not involved in the inhibition of the auxin-regulated rolB gene expression in tobacco leaf explants / D. Bellincampi [et al.] // *Plant Physiology*. – 2000. – Vol. 122, N 4. – P. 1379–1386.
25. Kumar, G. N. M. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and freeradical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers / G. N. M. Kumar, N. R. Knowles // *Plant Physiology*. – 1993. – Vol. 102, N 1. – P. 115–124.
26. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика : учеб. пособие / П. Ф. Рокицкий. – 3-е изд., испр. – Минск : Вышэйш. шк., 1973. – 318 с.
27. Collins, N. C. Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: Where do we stand / N. C. Collins, F. Tardieu, R. Tuberosa // *Plant Physiology*. – 2008. – Vol. 147, N 2. – P. 469–486.
28. Кудоярова, Г. Р. Образование фитогормонов почвенными и ризосферными бактериями как фактор стимуляции роста растений / Г. Р. Кудоярова, И. К. Курдиш, А. И. Мелентьев // *Изв. Уфим. науч. центра Рос. акад. наук*. – 2011. – № 3–4. – С. 5–15.
29. Кузнецов, В. В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / В. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // *Физиология растений*. – 1999. – Т. 46, N 2. – С. 321–336.
30. Expression of Bacillus subtilis proBA genes and reduction of feedback inhibition of proline synthesis increases proline production and confers osmotolerance in transgenic Arabidopsis / M. Chen [et al.] // *J. of Biochemistry and Molecular Biology*. – 2007. – Vol. 40, N 3. – P. 396–403.
31. Bano, A. Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas* / A. Bano, M. Fatima // *Biology and Fertility of Soils*. – 2009. – Vol. 45, N 4. – P. 405–413.
32. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny / P. B. Kavi Kishor [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – Vol. 6, Art. 544. – P. 108–122.
33. Leshem, Y. Induction of phosphatidyl-inositol 3-kinase-mediated endocytosis by salt stress leads to intracellular production of reactive oxygen species and salt tolerance / Y. Leshem, L. Seri, A. Levine // *Plant J.* – 2007. – Vol. 51, N 2. – P. 185–197.
34. NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF function in ROS-dependent regulation of Na⁺/K⁺ homeostasis in Arabidopsis under salt stress / L. Ma [et al.] // *J. of Experimental Botany*. – 2012. – Vol. 63, N 1. – P. 305–317.
35. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxidase in barley roots under saline stress / S. Y. Kim [et al.] // *J. of Biochemistry and Molecular Biology*. – 2005. – Vol. 38, N 2. – P. 218–224.
36. Вайнер, А. А. Участие пероксида водорода в индуцировании накопления пролина в растениях проса при действии NaCl / А. А. Вайнер, Ю. Е. Колупаев, Т. О. Ястреб // *Вісн. Харк. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія*. – 2013. – Вип. 2. – С. 32–38.
37. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата / Н. Л. Радюкина [и др.] // *Физиология растений*. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 721–730.
38. Экзогенный пролин модифицирует дифференциальную экспрессию генов супероксидсмутазы в растения шалфея при UV-B облучении / Н. Л. Радюкина [и др.] // *Физиология растений*. – 2011. – Т. 58, № 1. – С. 49–57.
39. The accumulation of endogenous proline induced changes in gene expression of several antioxidante enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo / K. de Carvahlo [et al.] // *Molecular Biology Rep.* – 2013. – Vol. 40, N 4. – P. 3269–3279.

References

1. Rengasamy P. World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany*, 2006, vol. 57, no. 5, pp. 1017–1023. DOI: 10.1093/jxb/erj108
2. Flowers T. J., Colmer T. D. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 2008, vol. 179, no. 4, pp. 945–963. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x
3. Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, vol. 59, pp. 651–681. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
4. Geissler N., Hussin S., Koyro H.-W. Interactive effects of NaCl salinity and elevated atmospheric CO₂ concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte *Aster tripolium* L. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, vol. 65, no. 2–3, pp. 220–231. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2008.11.001
5. Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 2002, vol. 25, no. 2, pp. 239–250. DOI: 10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x
6. Carillo P., Annunziata M. G., Pontecorvo G., Fuggi A., Woodrow P. Salinity stress and salt tolerance. *Abiotic stress in plants – Mechanisms and adaptations*. Available at: <https://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-in-plants-mechanisms-and-adaptations/salinity-stress-and-salt-tolerance> (accessed 26.08.2017).
7. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2002, vol. 7, no. 9, pp. 406–410. DOI: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9
8. Koyro H.-W., Geissler N., Hussin S. Survival at extreme locations: Life strategies of halophyte. *Salinity and Water*. Dordrecht, 2009, pp. 167–177. DOI: 10.1007/978-1-4020-9065-3_17
9. Parida A. K., Das A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, vol. 60, no. 3, pp. 324–349. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2004.06.010
10. Kolupaev Yu. E. Plant cell antioxidants and their role in AOF signaling and plant resistance. *Uspekhi sovremennoi biologii = Biology Bulletin Reviews*, 2016, vol. 136, no. 2, pp. 181–198 (in Russian).

11. Xue Y. F., Liu Zh. P. Antioxidant enzymes and physiological characteristics in two Jerusalem artichoke cultivars under salt stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2008, vol. 55, no. 6, pp. 776–781. DOI: 10.1134/S1021443709010221
12. Shaposhnikov A. I., Belimov A. A., Kravchenko L. V., Vivanko D. M. Interaction of rhizosphere bacteria with plants: mechanisms of formation and factors of efficiency in associative symbiosis (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural biology*, 2011, vol. 3, pp. 16–22 (in Russian).
13. Khairullin P. M., Nedorezkov V. D., Mubinov I. G., Zakharova R. Sh. Increase of resistance of wheat to abiotic stresses by endophytic strain of *Bacillus subtilis*. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta [Vestnik of the Orenburg State University]*, 2007, no. 2, pp. 129–134 (in Russian).
14. Maksimov I. V., Veselova S. V., Nuzhnaya T. V., Sarvarova E. R., Khairullin R. M. Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2015, vol. 62, no. 6, pp. 715–726. DOI: 10.1134/S1021443715060114
15. Kasim W. A., Gaafar R. M., Abou-Ali R. M., Omar M. N., Hewait H. M. Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Annals of Agricultural Science*, 2016, vol. 61, no. 2, pp. 217–227. DOI: 10.1016/j.aos.2016.07.003
16. Upadhyay S. K., Singh J. Sh., Saxena A. K., Singh D. P. Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. *Plant Biology*, 2011, vol. 14, no. 4, pp. 605–611. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2011.00533.x
17. Dodd I. C., Pérez-Alfocea F. Microbial amelioration of crop salinity stress. *Journal of Experimental Botany*, 2012, vol. 63, no. 9, pp. 3415–3428. DOI: 10.1093/jxb/ers033
18. Hernandez M., Fernandes-Garcia N., Diaz-Vivancos P., Olmos E. A different role for hydrogen peroxide and antioxidative system under short and long salt stress in *Brassica oleracea* roots. *Journal of Experimental Botany*, 2010, vol. 61, no. 2, pp. 521–535. DOI: 10.1093/jxb/erp321
19. Kalatskaya Zh. N., Doroshchuk O. V., Laman N. A., Molchan O. V., Nosonova T. L., Ovchinnikov I. A., Frolova T. V., Bratanova M. A., Mandrik-Litvinkovich M. N. The influence of compositions on the basis of bacteria-antagonists *Bacillus* and phytohormones on salinity tolerance of barley seedlings. *Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sbornik nauchnykh trudov [Microbial biotechnology: fundamental and applied aspects: a collection of scientific papers]*. Minsk, 2017, vol. 9, pp. 183–190 (in Russian).
20. Bates L. S., Waldren R. P., Teare J. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 1973, vol. 39, no. 1, pp. 205–207. DOI: 10.1007/bf00018060
21. Ermakov A. I. (ed.). *Methods of biochemical research of plants*. 3rd ed. Leningrad, Agropromizdat (Leningradskoe otделение) Publ., 1987. 429 p. (in Russian).
22. Giannopolitis C. N., Ries S. K. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, vol. 73, no. 2, pp. 627–650. DOI: 10.1104/pp.59.2.309
23. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1–2, pp. 248–254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
24. Bellincampi D., Dipierro N., Salvi G., Cervone F., Lorenzo de G. Extracellular H₂O₂ induced by oligogalacturonides is not involved in the inhibition of the auxin-regulated rolB gene expression in tobacco leaf explants1. *Plant Physiology*, 2000, vol. 122, no. 4, pp. 1379–1386. DOI: 10.1104/pp.122.4.1379
25. Kumar G. N. M., Knowles N. R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and freeradical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers. *Plant Physiology*, 1993, vol. 102, no. 1, pp. 115–124. DOI: 10.1104/pp.102.1.115
26. Rokitskii P. F. *Biological statistics*. Minsk, Vysheishaya shkola, 1973. 318 p. (in Russian).
27. Collins N. C., Tardieu F., Tuberosa R. Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: Where do we stand? *Plant Physiology*, 2008, vol. 147, no. 2, pp. 469–486. DOI: 10.1104/pp.108.118117
28. Kudoyarova G. R., Kudrish I. K., Melent'ev A. I. The formation of phytohormones by soil and rhizosphere bacteria as a factor stimulating plant growth. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk = Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*, 2011, no. 3–4, pp. 5–15 (in Russian).
29. Kuznetsov V. V., Shevyakova N. I. Proline under stress: biological role, metabolism, regulation. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology*, 1999, vol. 46, no. 2, pp. 321–336 (in Russian).
30. Chen M., Wei H., Cao J., Liu R., Wang Y., Zheng C. Expression of *Bacillus subtilis* proBA genes and reduction of feedback inhibition of proline synthesis increases proline production and confers osmotolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, vol. 40, no. 3, pp. 396–403.
31. Bano A., Fatima M. Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils*, 2009, vol. 45, no. 4, pp. 405–413. DOI: 10.1007/s00374-008-0344-9
32. Kavi Kishor P.B., Hima Kumari P., Sunita M. S., Sreenivasulu N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. *Frontiers in Plant Science*, 2015, vol. 6, art. 544, pp. 108–122. DOI: 10.3389/fpls.2015.00544
33. Leshem Y., Seri L., Levine A. Induction of phosphatidyl-inositol 3-kinase-mediated endocytosis by salt stress leads to intracellular production of reactive oxygen species and salt tolerance. *Plant Journal*, 2007, vol. 51, no. 2, pp. 185–197. DOI: 10.1111/j.1365-313x.2007.03134.x
34. Ma L., Zhang H., Sun L., Jiao Y., Zhang G., Miao Ch., Hao F. NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF function in ROS-dependent regulation of Na⁺/K⁺ homeostasis in *Arabidopsis* under salt stress. *Journal of Experimental Botany*, 2012, vol. 63, no. 1, pp. 305–317. DOI: 10.1093/jxb/err280

35. Kim S. Y., Lim J.-H., Park M.-R., Kim Y.-J., Park T.-I., Seo Y.-W., Choi K.-G., Yun S.-J. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxidase in barley roots under saline stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, vol. 38, no. 2, pp. 218–224. DOI: 10.5483/bmbrep.2005.38.2.218

36. Vainer A. A., Kolupaev U. E., Yastreb T. O. The hydrogen peroxide contribution in inducing proline accumulation in millet plants under the action of NaCl. *Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo agrarnogo universitetu. Seriya Biologiya = The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Biology series*, 2013, Iss. 2, pp. 32–38 (in Russian).

37. Radyukina N. L., Shashukova A. V., Shevyakova N. I., Kuznetsov V. I. V. Proline involvement in the common sage antioxidant system in the presence of NaCl and paraquat. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2008, vol. 55, no. 5, art. 649. DOI: 10.1134/S1021443708050087

38. Radyukina N. L., Shashukova A. V., Makarova S. S., Kuznetsov V. I. V. Exogenous proline modifies differential expression of superoxide dismutase genes in UV-B-irradiated *Salvia officinalis* plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2011, vol. 58, no. 1, pp. 51–59. DOI: 10.1134/S1021443711010122

39. De Carvalho K., de Campos M. K. F., Domingues D. S., Pereira L. F. P., Vieira L. G. E. The accumulation of endogenous proline induced changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrangelo. *Molecular Biology Reports*, 2013, vol. 40, no. 4, pp. 3269–3279. DOI: 10.1007/s11033-012-2402-5

Информация об авторах

Дорощук Ольга Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: doroshuk.olga@mail.ru.

Калацкая Жанна Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Ламан Николай Афанасьевич – академик, д-р биол. наук, заведующий отделом. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikolai.laman@gmail.com.

Фролова Татьяна Викторовна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: frolovatv9209@gmail.com.

Шевцов Николай Александрович – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: frolovatv9209@gmail.com.

Овчинников Игорь Алексеевич – лаборант. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: igor-1606@mail.ru.

Information about the authors

Olga V. Doroshchuk – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: doroshuk.olga@mail.ru.

Joanna N. Kalatskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalatskayaj@mail.ru.

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (Biol.), Head of the Department. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikolai.laman@gmail.com.

Tatiana V. Frolova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: frolovatv9209@gmail.com.

Nikolai A. Shevtsov – Junior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: frolovatv9209@gmail.com.

Igor A. Ovchinnikov – laboratory assistant. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: igor-1606@mail.ru.

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.222.73:577.2

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-146-154

Поступила в редакцию 27.09.2017

Received 27.09.2017

Н. И. Дубовец¹, Е. А. Сычева¹, Н. И. Дробот¹, Е. Б. Бондаревич¹,
Л. А. Соловей¹, О. Г. Силкова²

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Российская Федерация

**ПРЕБРИДИНГОВАЯ ОЦЕНКА РЕКОМБИНАНТНЫХ
И ИНТРОГРЕССИВНЫХ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ
ПО АЛЛЕЛЬНОМУ СОСТАВУ ГЕНОВ КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ
Rht-B1, *Rht-D1*, *Rht8* И *Ddw1***

Аннотация. Представлены результаты анализа геномной структуры и аллельного состава генов короткостебельности *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1* у 33 вторичных рекомбинантных линий (ВРЛ) гексаплоидных тритикале с различными типами D(A)- и D(B)-замещений хромосом и у 8 интрогрессивных линий пшеницы с R(A)-, R(B)- и R(D)-замещениями хромосом. Установлено, что генотипы ВРЛ в подавляющем большинстве содержат аллель *Rht-B1b* в гомозиготном состоянии и только 9 из них, так же как и все интрогрессивные линии пшеницы, являются гомозиготными по аллелю *Rht-B1a*, а 4 линии неоднородны по аллельному составу гена *Rht-B1*. У всех исследованных ВРЛ присутствовал аллель *Rht8a* (165 п. н.), тогда как у интрогрессивных линий выявлен аллель *Rht8b* (174 п. н.). Гетерозиготными по аллельному составу гена *Rht-D1* (*Rht-D1a/Rht-D1b*) являлись 5 интрогрессивных линий пшеницы. У 3 линий наряду с гетерозиготными встречались растения, гомозиготные по аллелям *Rht-D1a* и *Rht-D1b*. Образцов, несущих ген *Ddw1*, не выявлено. По результатам генотипирования отобраны ВРЛ гексаплоидных тритикале с геном *Rht-B1b*, перспективные для использования в селекции на устойчивость к полеганию.

Ключевые слова: пшенично-ржаные гибриды, хромосомно-замещенные линии, короткостебельность, кариотип, С-бэндинг, ДНК-маркеры

Для цитирования: Пребридинговая оценка рекомбинантных и интрогрессивных пшенично-ржаных гибридов по аллельному составу генов короткостебельности *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1* / Н. И. Дубовец [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 146–154. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-146-154

N. I. Dubovets¹, Y. A. Sycheva¹, N. I. Drobot¹, Y. B. Bondarevich¹,
L. A. Solovey¹, O. G. Silkova²

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,
Novosibirsk, Russian Federation

**PREBREEDING ASSESSMENT OF DWARFING GENES *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* AND *Ddw1* ALLELIC
COMPOSITION IN RECOMBINANT AND INTROGRESSIVE WHEAT-RYE HYBRIDES**

Abstract. The results of the analysis of genomic structure and allelic composition of the dwarf genes *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* and *Ddw1* in 33 secondary recombinant lines (SRL) of hexaploid triticale with various types of D(A)- and D(B)-chromosome substitutions and 8 introgressive wheat lines with R(A)-, R(B)- and R(D)-chromosome substitutions are presented. It was found that in the overwhelming majority SRL genotypes contain the *Rht-B1b* allele in the homozygous state. Nine SRLs and all introgressive wheat lines are homozygous by the *Rht-B1a* allele; 4 lines are heterogeneous in the allelic composition of the *Rht-B1* gene. The *Rht8a* allele (165 bp) was present in all the investigated SRLs, whereas the *Rht8b* allele (174 bp) was detected in introgressive wheat lines. Five introgressive wheat lines were heterozygous by the allelic composition of the *Rht-D1* (*Rht-D1a/Rht-D1b*) gene. In three lines, along with the *Rht-D1a/Rht-D1b* genotype, plants homozygous for the *Rht-D1a* and *Rht-D1b* alleles were found. No samples bearing the *Ddw1* gene were identified. Based on the genotyping results, SRL of hexaploid triticale with the *Rht-B1b* gene – promising for use in breeding for lodging resistance – were selected.

Keywords: wheat-rye hybrids, chromosome-substituted lines, introgressive wheat lines, semi-dwarfing alleles, karyotype, C-banding, DNA-markers

For citation: Dubovets N. I., Sycheva Y. A., Drobot N. I., Bondarevich Y. B., Solovey L. A., Silkova O. G. Prebreeding assessment of dwarfing genes *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* and *Ddw1* allelic composition in recombinant and introgressive wheat-rye hybrids. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 146–154 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-146-154

Введение. Современная селекция растений включает целый комплекс методов, базирующихся на последних достижениях генетики и клеточной биологии. В генетико-селекционных программах по тритикале и пшенице большое внимание уделяется применению хромосомно-инженерных технологий, значительно расширяющих возможности целенаправленного преобразования генетической структуры культурных видов растений с целью обогащения их генофонда. В качестве исходного материала для селекции используются линии с замещениями и транслокациями. При этом одним из основных источников для улучшения тритикале является генный пул D-генома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. [1–4], тогда как в программах по разведению пшеницы широкое применение нашла гибридизация с рожью *Secale cereale* L. [5–9]. Эффективность выявления и оценки перспективного исходного материала для селекционной работы значительно повышается при сочетании хромосомных технологий с маркер-сопутствующим отбором [10, 11].

Цель работы – выявление аллелей, обеспечивающих устойчивость растений к полеганию, с помощью ДНК-типирования генов короткостебельности у рекомбинантных и интрогрессивных форм пшенично-ржаных гибридов, созданных методами хромосомной инженерии.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили:

33 линии вторичных рекомбинантных (ВРЛ) гексаплоидных тритикале с интрогрессией хромосом D-генома пшеницы в виде D(A)- и D(B)-замещений селекции ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»;

8 пшенично-ржаных замещенных линий (ПРЗЛ) с различными типами R(A)-, R(B)- и R(D)-замещений хромосом селекции ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН»: ПРЗЛ-1 – 1Rv(1A), ПРЗЛ-2 – 1Ron.(1A), ПРЗЛ-3 – 2R(2D), ПРЗЛ-4 – 2R(2D)₂, ПРЗЛ-5 – 2R(2D)₃, ПРЗЛ-6 – 3R(3B), ПРЗЛ-7 – 5R(5A), ПРЗЛ-8 – 6R(6A) (линии 2R(2D), 2R(2D)₂ и 2R(2D)₃ отличались по количеству ДНК сорта Саратовская 29, в то время как другой составляющей бэкграунда являлся сорт пшеницы Новосибирская 67).

Геномную структуру экспериментального материала определяли с помощью одного из вариантов метода дифференциального окрашивания хромосом по Гимза (С-бэндинг), разработанного в Институте молекулярной биологии РАН [12]. Для анализа препаратов использовали микроскоп Ампливал (Карл Цейс, Йена) с объективом Апохромат (×100, апертура 1,32 МИ). Идентификацию индивидуальных хромосом A-, B-, D- и R-геномов осуществляли согласно обобщенной видовой идиограмме дифференциально окрашенных хромосом [13]. Для получения изображения в цифровом формате использовали систему анализа изображений. Обработку полученного изображения метафазной пластинки осуществляли с помощью графического редактора Photoshop (версия 5.0).

Для выделения и очистки ДНК использовали готовые наборы реактивов Genomic DNA Purification Kit K0512 (Fermentas, Литва), для выявления аллельного состава генов короткостебельности *Rht-B1b*, *Rht-D1* и *Rht8* – праймеры в модификации X. Zhang с соавт. [14]. Наличие гена *Ddw1* определяли с помощью микросателлитного маркера REMS1218 [15]. Продукты ПЦР фракционировали методом горизонтального электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле в 1×TAE буфере в течение 45–60 мин при напряжении в 80–100 В. Результат документировали в системе гель-документации QUANTUM ST4-1100. Для точного определения размера амплифицированных фрагментов с SSR-маркерами проведен фрагментный анализ продуктов ПЦР. Данные анализировали с помощью прибора AppliedBiosystems 3500 Genetic Analyzer и прилагаемой к нему программы.

Результаты и их обсуждение. *Анализ геномной структуры экспериментального материала.* При проведении исследований с использованием отдаленных гибридов и рекомбинантных форм обязательным условием является точное знание геномной структуры включенных в анализ образцов, что позволяет целенаправленно подбирать праймеры для идентификации аллелей хозяйственно-полезных генов. В связи с этим все задействованные в эксперименте пшенично-ржаные гибриды были кариотипированы с помощью метода С-бэндинга. Полученные данные представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Типы межгеномных замещений хромосом у вторичных рекомбинантных линий гексаплоидных тритикале

T a b l e 1. Types of intergenomic chromosome substitutions in the secondary recombinant lines of hexaploid triticales

Линия	Комбинация скрещивания	Типы межгеномных замещений хромосом
ВРЛ-1/2015	Лана × ПРЛ-2	1D(1A), 2D(2B)
ВРЛ-2/2015	Лана × ПРЛ-3	1D(1A), 6D(6B)
ВРЛ-3/2015	Кargo × ПРЛ-6	2D(2B), 3D(3A)
ВРЛ-4/2015	Кargo × ПРЛ-6	3D(3A)
ВРЛ-5/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-6/2015	Кargo × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-7/2015	Кargo × ПРЛ-5	1D(1A), 3D(3A)
ВРЛ-8/2015	Кargo × ПРЛ-5	1D(1A), 2D(2B)
ВРЛ-9/2015	Кargo × ПРЛ-5	1D(1A), 2D(2B), 3D(3A)
ВРЛ-10/2015	Кargo × ПРЛ-8	3D(3A)
ВРЛ-11/2015	Лана × ПРЛ-7	1D(1A), 2D(2B), 6D(6B)
ВРЛ-12/2015	Miesko × ПРЛ-7	2D(2B)
ВРЛ-13/2015	Miesko × ПРЛ-7	1D(1A), 2D(2B), 3D(3A)
ВРЛ-14/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-15/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-16/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-17/2015	Miesko × ПРЛ-3	1D(1A), mono-6D(6A)
ВРЛ-18/2015	Miesko × ПРЛ-4	1D(1A)
ВРЛ-19/2015	Miesko × ПРЛ-4	1D(1A), mono-2D(2A), mono-2D(2B), 6D(6B) 1D(1A), 2D(2B), 6D(6B)
ВРЛ-20/2015	Miesko × ПРЛ-4	1D(1A), 6D(6B), 1D(1A), 6D(6B), 1D(1A), mono-6D(6A)
ВРЛ-21/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-22/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-23/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-24/2015	Лана × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-25/2015	Лана × ПРЛ-2	2D(2B)
ВРЛ-26/2015	Лана × ПРЛ-3	6D(6B)
ВРЛ-27/2015	Лана × ПРЛ-3	1D(1A), 6D(6B)
ВРЛ-28/2015	Лана × ПРЛ-3	6D(6B)
ВРЛ-29/2015	Кargo × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-30/2015	Кargo × ПРЛ-1	1D(1A)
ВРЛ-31/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-32/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)
ВРЛ-33/2015	Кargo × ПРЛ-3	1D(1A)

Как видно из данных табл. 1, из 33 ВРЛ 30 имели стабильный одновариантный кариотип с интродукцией хромосом D-генома пшеницы различных гомеологических групп в дисомном состоянии (рис. 1). Три ВРЛ характеризовались неоднородным хромосомным составом и незавершенностью процесса стабилизации кариотипа. У ВРЛ-17/2015 выявлено замещение mono-6D(6A), у ВРЛ-19/2015 – два варианта кариотипа, в том числе с замещениями mono-2D(2A) и mono-2D(2B), у ВРЛ-20/2015 – четыре варианта кариотипа, в том числе с замещением mono-6D(6A). Ржаной компонент кариотипа всех ВРЛ был представлен диплоидным набором хромосом ржи. Случаев замещений или перестроек хромосом ржи не выявлено.

Анализ геномной структуры пшенично-ржаных замещенных линий подтвердил первичные данные [16] о наличии у них соответствующих R(A)-, R(B)- и R(D)-замещений хромосом (рис. 2).

Анализ аллельного состава генов короткостебельности. Известно, что формирование короткостебельности у тритикале определяется как генами пшеничного компонента кариотипа,

так и генами ржи. На настоящий момент идентифицировано более 20 генов короткостебельности пшеницы и показано наличие как минимум 5 генетических систем, детерминирующих снижение высоты растений у ржи [17–21]. В данном исследовании у пшенично-ржаных гибридов изучен аллельный состав главных генов короткостебельности *Triticum aestivum* (*Rht-1*, *Rht-D1* и *Rht8*) и *Secale cereale* (*Ddw1*), наиболее часто применяющихся в селекционных программах.

Проведенный нами предварительный анализ геномной структуры пшенично-ржаных гибридов с помощью дифференциального окрашивания хромосом по Гимза дал возможность целенаправленно использовать ПЦР-маркеры для идентификации аллелей генов короткостебельности.

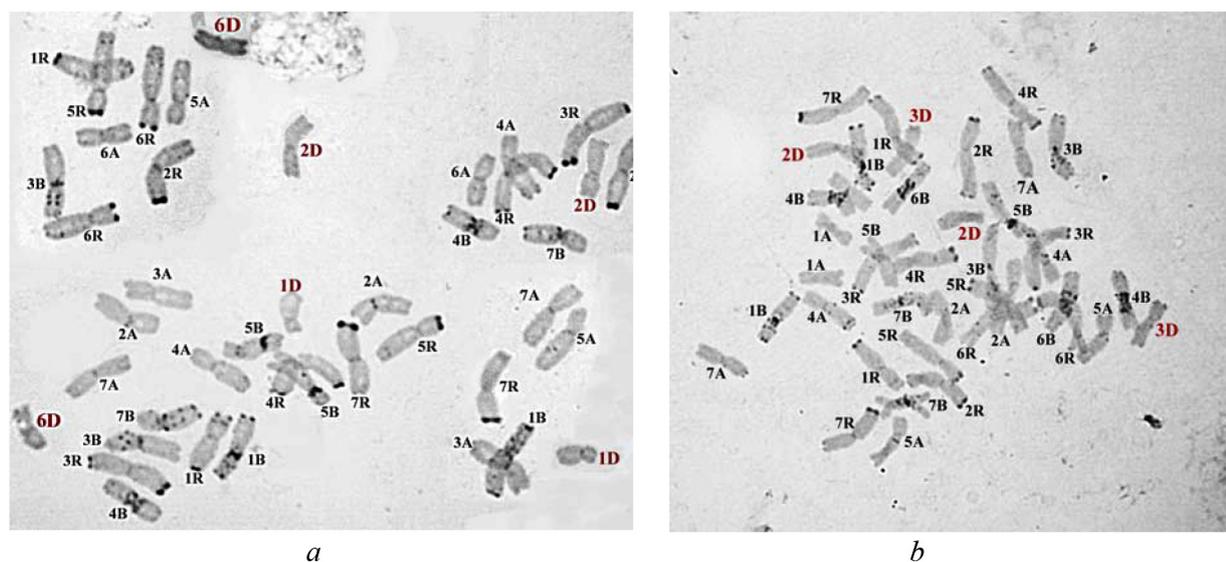


Рис. 1. Кариотипы вторичных рекомбинантных линий тритикале ВРЛ-11/2015 с 1D(1A)-, 2D(2B)- и 6D(6B)-замещениями (а) и ВРЛ-3/2015 с 2D(2B)- и 3D(3A)-замещениями хромосом (b) (С-бэндинг)

Fig. 1. Karyotypes of secondary recombinant lines of triticale SRL-11/2015 with 1D(1A)-, 2D(2B)- and 6D(6B)-substitutions (a) and SRL-3/2015 with 2D(2B)- and 3D(3A)-substitution of chromosomes (b) (C-banding)

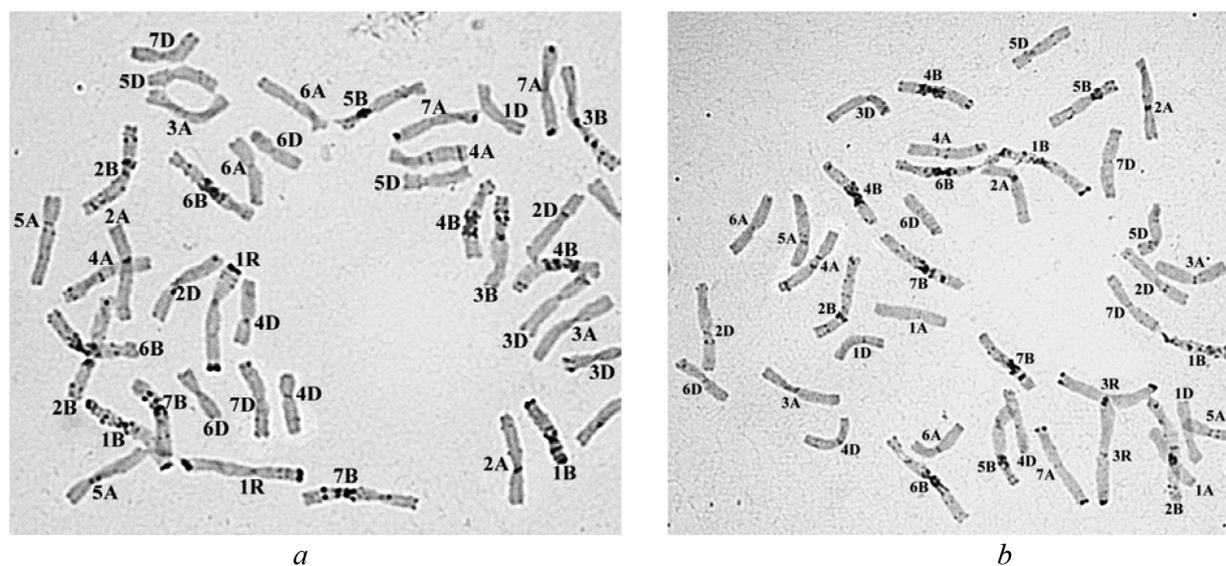


Рис. 2. Кариотипы пшенично-ржаных замещенных линий ПРЗЛ-1 с 1R(1A)-замещением хромосом (а) и ПРЗЛ-6 с 3R(3B)-замещением (b) (С-бэндинг)

Fig. 2. Karyotypes of wheat-rye substitution lines WRSL-1 with 1R(1A)-substitution of chromosomes (a) and WRSL-6 with 3R(3B)- substitution (b) (C-banding)

Как известно, ген *Rht-B1* локализован в коротком плече хромосомы 4В и имеет 7 аллелей (*b, c, d, e, f, g, Rht-B1^{IC2196}*), образовавшихся в результате различных мутаций [18, 22–24]. Интерес для селекции представляют аллели *Rht-B1b* и *Rht-B1e*, присутствие которых приводит к существенному снижению высоты растений.

Анализ рабочей коллекции по аллельному составу гена *Rht-B1* показал, что 20 ВРЛ тритикале содержат мутантный аллель *Rht-B1b* в гомозиготном состоянии (табл. 2, рис. 3), 9 ВРЛ и все 8 ПРЗЛ являются гомозиготными по дикому аллелю *Rht-B1a* (рис. 4), тогда как линии ВРЛ-15/2015, ВРЛ-18/2015, ВРЛ-20/2015, ВРЛ-28/2015 неоднородны по аллельному составу гена *Rht-B1*.

Таблица 2. Аллельный состав генов короткостебельности у вторичных рекомбинантных линий гексаплоидных тритикале

Table 2. Allelic composition of dwarfing genes in the secondary recombinant lines of hexaploid triticales

Линия	Аллельный состав генов короткостебельности		
	<i>Rht-B1</i>	<i>Rht8</i>	<i>Ddw1</i>
ВРЛ-1/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-2/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-3/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-4/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-5/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-6/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-7/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-8/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-9/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-10/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-11/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-12/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-13/2015	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-14/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-15/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-16/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-17/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-18/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-19/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-20/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-21/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-22/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-23/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-24/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-25/2015	<i>Rht-B1a</i>	<i>Rht8a</i>	–
ВРЛ-26/2015	<i>Rht-B1a</i>	–	–
ВРЛ-27/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-28/2015	<i>Rht-B1a/Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-29/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-30/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-31/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-32/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–
ВРЛ-33/2015	<i>Rht-B1b</i>	–	–

Для гена *Rht-D1*, локализованного в хромосоме 4D, выявлены 4 аллеля (*a, b, d* и *c*) [23]. Известно, что присутствие дикого аллеля гена *Rht-D1a* не приводит к укорачиванию длины соломки, тогда как наличие мутантных аллелей короткостебельности *Rht-D1b* и *Rht-D1c* снижает высоту растений пшеницы до 25 и ≈50 % соответственно [25, 26].

Поскольку ген короткостебельности *Rht-D1* локализован в коротком плече хромосомы 4D, из пшенично-ржаных гибридов, включенных в рабочую коллекцию, соответствующий геномный

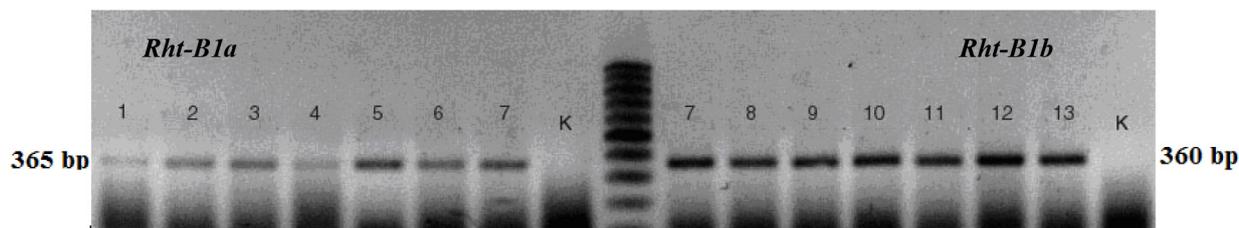


Рис. 3. Электрофореграмма детекции аллелей *Rht-B1a* и *Rht-B1b* у вторичных рекомбинантных линий тритикале: 1, 2 – ВРЛ-8/2015; 3, 4 – ВРЛ-12/2015; 5, 6 – ВРЛ-25/2015; 7 – ВРЛ-20/2015; 8, 9 – ВРЛ-2/2015; 10–12 – ВРЛ-7/2015; 13 – сорт Kargo (положительный контроль на *Rht-B1b*); М – маркер молекулярного веса Праймтех™, М100 bp; К – отрицательный контроль (ПЦР-смесь без ДНК-матрицы)

Fig. 3. Electrophoregram of *Rht-B1a* and *Rht-B1b* allele detection in secondary recombinant triticale lines: 1, 2 – SRL-8/2015; 3, 4 – SRL-12/2015; 5, 6 – SRL-25/2015; 7 – SRL-20/2015; 8, 9 – SRL-2/2015; 10–12 – SRL-7/2015; 13 – variety Kargo (positive control for *Rht-B1b*); M – molecular weight marker Praymtekh™, M100 bp; K – negative control (PCR mixture without DNA matrix)

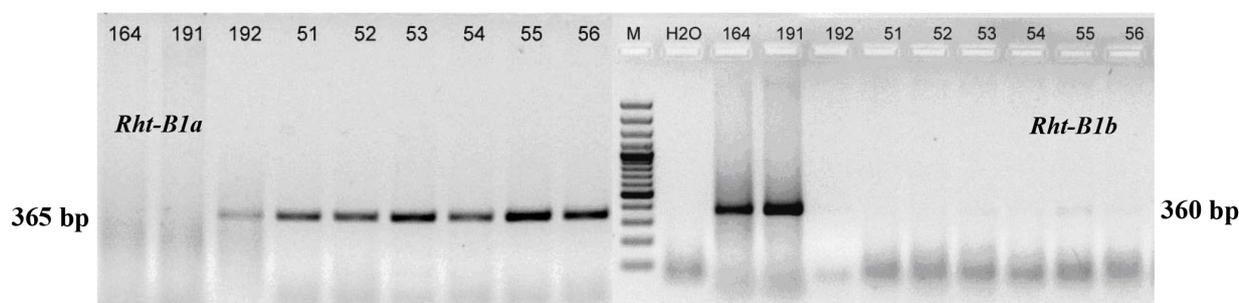


Рис. 4. Электрофореграмма детекции аллелей *Rht-B1a* и *Rht-B1b* у пшенично-ржаной замещенной линии ПРЗЛ-1: 164, 191 – положительный контроль на аллель *Rht-B1b* (сорт тритикале Kargo); 192 – положительный контроль на *Rht-B1a*; 51–56 – пшенично-ржаная замещенная линия ПРЗЛ-1; М – маркер молекулярного веса GeneRuler™ 100 bpDNA Ladder

Fig. 4. Electrophoregram of *Rht-B1a* and *Rht-B1b* allele detection in wheat-rye substitution line WRSЛ-1: 164, 191 – positive control for allele *Rht-B1b* (triticale variety Kargo); 192 – positive control for allele *Rht-B1a*; 51–56 – wheat-rye substitution line WRSЛ-1; M – molecular weight marker GeneRuler™ 100 bpDNA Ladder

состав имели только ПРЗЛ. Молекулярно-генетический анализ показал, что растения линий ПРЗЛ-1, ПРЗЛ-4, ПРЗЛ-5, ПРЗЛ-6 и ПРЗЛ-7 гетерозиготны по аллельному составу гена *Rht-D1* (*Rht-D1a/Rht-D1b*). У линии ПРЗЛ-2 большинство проанализированных растений содержали гетерозиготу *Rht-D1a/Rht-D1b*, однако встречались и гомозиготные по дикому аллелю *Rht-D1a* растения. У линий ПРЗЛ-3 и ПРЗЛ-8, напротив, помимо гетерозиготных генотипов отмечены единичные растения, гомозиготные по мутантному аллелю *Rht-D1b*.

Для изучения аллельного состояния гена *Rht8*, локализованного в хромосоме 2DS, используется сцепленный с ним микросателлитный локус *Xgwm261*. Всего выявлено 20 аллелей данного локуса (а следовательно, и гена *Rht8*), но наиболее распространенными являются аллели длиной 165, 174 и 192 п. н. Показано, что наличие у пшеницы дикого аллеля гена *Rht8a* (*Xgwm261*₁₆₅) не влияет на высоту растений, присутствие же аллелей *Rht8c* (*Xgwm261*₁₉₂) и *Rht8b* (*Xgwm261*₁₇₄) снижает высоту примерно на 8 и 3,2 см соответственно [26].

Аллельный состав гена *Rht8* изучен у 9 ВРЛ тритикале, в геноме которых, согласно данным карiotипирования, присутствует хромосома 2D (см. табл. 1), и у 5 ПРЗЛ (за исключением линий с 2R(2D)-замещением). В ходе фрагментного анализа полученных продуктов ПЦР установлено, что у всех исследованных ВРЛ присутствует аллель дикого типа *Rht8a* (165 п. н.), тогда как пшенично-ржаные замещенные линии несут аллель *Rht8b* (174 п. н.). Коммерческий аллель *Rht8c* данного гена, обуславливающий существенное снижение высоты растения, в исследованном материале не выявлен.

Помимо генов короткостебельности пшеницы в геноме пшенично-ржаных гибридов могут присутствовать гены короткостебельности ржи. Наиболее удобным и значимым для селекции

является тип короткостебельности, обеспечивающийся одним доминантным геном – *Ddw1*. Установлено, что ген *Ddw1* расположен на длинном плече хромосомы 5R [27] и тесно сцеплен с микросателлитным локусом *REMS1218*, который используют для идентификации данного гена [15]. В ходе генотипирования экспериментального материала с помощью микросателлитного маркера *REMS1218* образцов, несущих ген *Ddw1*, не выявлено.

Заключение. Молекулярно-цитогенетическое маркирование (С-бэндинг) включенных в исследование рекомбинантных и интрогрессивных форм пшенично-ржаных гибридов, в ходе которого получена точная информация о хромосомном составе экспериментального материала, позволило целенаправленно подобрать праймеры для дальнейшей идентификации в нем аллелей генов короткостебельности. С помощью ПЦР с подобранными праймерами проведено генотипирование по генам *Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8* и *Ddw1*, обуславливающим формирование короткостебельности. По результатам генотипирования отобраны вторичные рекомбинантные линии гексаплоидных тритикале с геном *Rht-B1b*, перспективные для использования в селекции на устойчивость к полеганию.

Благодарности. Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке грантов Российского научного фонда (№16-16-00011) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ Б15СО-030).

Acknowledgements. The study was supported by the Russian Science Foundation (no. 16-16-00011) and Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (no. B15CO-030).

Список использованных источников

1. A study on spring hexaploid triticales with mixed wheat component of karyotype / N. I. Dubovets [et al.] // Proc. 5th Inter. Triticale Symposium, Radzikow, Poland, June 30 – July 5, 2002 / ed. : E. Arseniuk. – IJAR, 2002. – Vol. 2. – P. 303–310.
2. Создание коллекции хромосомно-замещенных линий гексаплоидных тритикале и ее использование в практической селекции и цитогенетических исследованиях / Н. И. Дубовец [и др.] // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси ; редкол. : А. В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2010. – Т. 11. – С. 111–119.
3. Effective transfer of chromosomes carrying leaf rust resistance genes from *Aegilops tauschii* Coss. into hexaploid triticales (*X Triticosecale* Witt.) using *Ae. tauschii* × *Secale cereale* amphiploid forms / M. Kwiatek [et al.] // J. Appl. Genet. – 2015. – Vol. 56, N 2. – P. 163–168.
4. The effect of introgressions of wheat D-genome chromosomes into ‘Presto’ triticales / H. Budak [et al.] // Euphytica. – 2004. – Vol. 137, N 2. – P. 261–270.
5. Shlegel, R. Current list of wheats with rye and alien introgression [Электронный ресурс] / R. Shlegel. – Режим доступа: <http://www.desicca.de/Wheat-rye-introgression>. – Дата доступа: 17.06.2015.
6. Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-rye 4R chromosome translocation line resistant to powdery mildew / D. An [et al.] // Chromosome Res. – 2013. – Vol. 21, N 4. – P. 419–432.
7. Molecular cytogenetic identification of a new wheat-rye 6R chromosome disomic addition line with powdery mildew resistance / D. An [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 8. – e0134534.
8. New wheat-rye 5DS-4RS4RL and 4RS-5DS 5DL translocation lines with powdery mildew resistance / S. Fu [et al.] // J. Plant Res. – 2014. – Vol. 127, N 6. – P. 743–753.
9. Crespo-Herrera, L. A systematic review of rye (*Secale cereale* L.) as a source of resistance to pathogens and pests in wheat (*Triticum aestivum* L.) / L. A. Crespo-Herrera, L. Garkava-Gustavsson, I. Ahman // Hereditas. – 2017. – Vol. 154, N 1. – DOI: 10.1186/s41065-017-0033-5
10. Идентификация генов короткостебельности *Rht2* и *Rht8* у образцов гексаплоидного тритикале с помощью ДНК маркеров / К. У. Куркиев [и др.] // Информ. вестн. ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 3. – С. 372–376.
11. Divashuk, M. G. The effect of selection for phenotypical characters on the chromosome constitution in spring triticales / M. G. Divashuk, A. A. Solov'ev, G. I. Karlov // Genetika. – 2010. – Vol. 46, N 3. – P. 383–388.
12. Бадаева, Е. Д. Изменение хромосом ржи в кариотипе тритикале : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.15 / Е. Д. Бадаева. – М., 1984. – 181 л.
13. “Chromosomal passport” of *Triticum aestivum* L. em Thell. cv. Chinese Spring and standartization of chromosomal analysis of cereals / E. D. Badaeva [et al.] // Cereal Res. Commun. – 1990. – Vol. 18, N 4. – P. 273–281.
14. Distribution of the *Rht-B1b*, *Rht-D1* and *Rht8* reduced height genes in autumn-sown Chinese wheats detected by molecular markers / X. Zhang [et al.] // Euphytica. – 2006. – Vol. 152, N 1. – P. 109–116.
15. Tenhola-Roininen, T. Tagging the dwarfing gene *Ddw1* in a rye population derived from doubled haploid parents / T. Tenhola-Roininen, P. Tanhuanpaa // Euphytica. – 2010. – Vol. 172, N 3. – P. 303–312.
16. Получение пшенично-ржаных замещенных линий на основе озимых сортов ржи с идентификацией кариотипов методами С-бэндинга, GISH и SSR-маркеров / О. Г. Силкова [и др.] // Генетика. – 2007. – Т. 43, № 8. – С. 1149–1152.
17. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013–2014 supplement [Electronic resources] / R. A. McIntosh [et al.]. – Mode of access: http://maswheat.ucdavis.edu/CGSW/2013-2014_Supplement.pdf. – Date of access: 11.09.2017.
18. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye / A. Borner [et al.] // Euphytica. – 1996. – Vol. 89, N 1. – P. 69–75.

19. Stojalowski, S. Phenotypic effect and chromosomal localization of *Ddw3*, the dominant dwarfing gene in rye (*Secale cereale* L.) / S. Stojalowski, B. Myskow, M. Hanek // *Euphytica*. – 2014. – DOI: 10.1007/s10681-014-1173-6 (online version)
20. Kobyljanski, V. D. Effect of the dominant character of short straw / V. D. Kobyljanski // *Hodowla Rosl Aklim Nasienn*. – 1975. – Vol. 19, N 5/6. – P. 495–501.
21. Кобылянский, В. Д. Новые селекционные признаки озимой ржи / В. Д. Кобылянский // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке. Состояние, проблемы, перспективы : тез. докл. II Вавилов. междунар. конф., Санкт-Петербург, 26–30 ноября 2007 г. – СПб. : ВИР, 2007. – С. 476–477.
22. ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators / J. R. Peng [et al.] // *Nature*. – 1999. – Vol. 400. – P. 256–261.
23. Molecular characterization of *Rht1* dwarfing genes in hexaploid wheat / S. Pearce [et al.] // *Plant Physiol*. – 2011. – Vol. 157, N 4. – P. 1820–1831.
24. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, *Rht-B1e*, and development of an allele-specific PCR marker / A. Li [et al.] // *Mol. Breeding*. – 2012. – Vol. 30, N 3. – P. 1443–1451.
25. Optimizing wheat grain yield effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes / E. Flintham [et al.] // *J. of Agric. Sci.* – 1997. – Vol. 128, N 1. – P. 11–25.
26. Hoogendoorn, J. Differences in leaf and stem anatomy related to plant height of tall and dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Hoogendoorn, J. M. Rickson, M. D. Gale // *J. Plant Physiol*. – 1990. – Vol. 136, N 1. – P. 72–77.
27. Korzun, V. RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.) / V. Korzun, G. Melz, A. Borner // *Theor. Appl. Genet*. – 1996. – Vol. 92, N 8. – P. 1073–1077.

References

1. Dubovets N. I., Dymkova G. V., Solovej L. A., Shtyk T. I., Bormotov V. E. A study on spring hexaploid triticales with mixed wheat component of karyotype. *Proceedings of the 5th International Triticale Symposium*, Radzikow, Poland, June 30 – July 5, 2002; ed. : E. Arseniuk, IHAR, 2002, vol. 2, pp. 303–310.
2. Dubovets N. I., Sycheva Y. A., Solovey L. A., Shtyk T. I., Bondarevich Y. B., Adonina I. G., Salina Y. A., Kabashnikova L. F., Savchenko G. Y., Abramchik L. M. Creation of a collection of chromosome-substitution lines of hexaploid triticales and its use in breeding and cytogenetic studies. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika: sb. nauch. tr.* [Molecular and applied genetics: collection of scientific papers] ; Institut genetiki i tsitologii NAN Belarusi; redkol. : A. V. Kil’chevskii (gl. red.) [i dr.]. Minsk, Pravo i ekonomika, 2010, vol. 11, pp. 111–119 (in Russian).
3. Kwiatek M., Majka M., Wiśniewska H., Apolinarska B., Belter J. Effective transfer of chromosomes carrying leaf rust resistance genes from *Aegilops tauschii* Coss. into hexaploid triticales (*X Triticosecale* Witt.) using *Ae. tauschii* × *Secale cereale* amphiploid forms. *Journal of Applied Genetics*, 2015, vol. 56, no. 2, pp. 163–168. DOI: 10.1007/s13353-014-0264-3
4. Budak H., Baenziger P. S., Beecher B. S., Graybosch R. A., Campbell B. T., Shipman M. J., Erayman M., Eskridge K. M. The effect of introgressions of wheat D-genome chromosomes into ‘Presto’ triticales. *Euphytica*, 2004, vol. 137, no. 2, pp. 261–270. DOI: <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000041590.55511.d0>
5. Shlegel R. Current list of wheats with rye and alien introgression. Available at: <http://www.desicca.de/Wheat-rye-introgression> (accessed 17.06.2015).
6. An D., Zheng Q., Zhou Y., Ma P., Lv Z., Li L., Li B., Luo Q., Xu H., Xu Y. Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-rye 4R chromosome translocation line resistant to powdery mildew. *Chromosome Research*, 2013, vol. 21, no. 4, pp. 419–432. DOI: 10.1007/s10577-013-9366-8
7. An D., Zheng Q., Luo Q., Ma P., Zhang H., Li L., Han F., Xu H., Xu Y., Zhang X., Zhou Y. Molecular cytogenetic identification of a new wheat-rye 6R chromosome disomic addition line with powdery mildew resistance. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 8, e0134534. DOI: 10.1371/journal.pone.0134534
8. Fu S., Ren Z., Chen X., Yan B., Tan F., Fu T., Tang Z. New wheat-rye 5DS-4RS4RL and 4RS-5DS5DL translocation lines with powdery mildew resistance. *Journal of Plant Research*, 2014, vol. 127, no. 6, pp. 743–753. DOI: 10.1007/s10265-014-0659-6
9. Crespo-Herrera L. A., Garkava-Gustavsson L., Ahman I. A systematic review of rye (*Secale cereale* L.) as a source of resistance to pathogens and pests in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Hereditas*, 2017, vol. 154, no. 1. DOI: 10.1186/s41065-017-0033-5
10. Kurkiyev K. U., Tyryshkin L. G., Kolesova M. A., Kurkiyev U. K. Identification of the semi-dwarf genes *Rht2* and *Rht8* in hexaploid triticales using DNA markers. *Informatsionnyi vestnik VOGiS* [Information bulletin of VOGiS], 2008, vol. 12, no. 3, pp. 372–376 (in Russian).
11. Divashuk M. G., Solov’ev A. A., G. I. Karlov. The effect of selection for phenotypical characters on the chromosome constitution in spring triticales. *Genetika*, 2010, vol. 46, no. 3, pp. 383–388. DOI: 10.1134/S1022795410030117
12. Badaeva E. D. *Changing the chromosomes of rye in a karyotype of triticales*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 1984. 181 p. (in Russian).
13. Badaeva E. D., Sozinova L. F., Badaev N. S., Muravenko O. V., Zelenin A. V. “Chromosomal passport” of *Triticum aestivum* L. em Thell. cv. *Chinese Spring* and standartization of chromosomal analysis of cereals. *Cereal Research Communications*, 1990, vol. 18, no. 4, pp. 273–281.
14. Zhang X., Yang S., Zhou Y., He Z., Xia X. Distribution of the *Rht-B1b*, *Rht-D1* and *Rht8* reduced height genes in autumn-sown Chinese wheats detected by molecular markers. *Euphytica*, 2006, vol. 152, no. 1, pp. 109–116. DOI: 10.1007/s10681-006-9184-6

15. Tenhola-Roininen T., Tanhuanpaa P. Tagging the dwarfing gene *Ddw1* in a rye population derived from doubled haploid parents. *Euphytica*, 2010, vol. 172, no. 3, pp. 303–312. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-009-9982-8>
16. Silkova O. G., Dobrovolskaya O. B., Dubovets N. I., Adonina I. G., Kravtsova L. A., Shchapova A. I., Shumnyy V. K. Production of wheat-rye substituted lines based on winter rye varieties with identification of karyotypes using C-banding, GISH and SSR-markers. *Russian Journal of Genetics*, 2007, vol. 43, no. 8, pp. 957–960. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1022795407080200>
17. McIntosh R. A., Dubcovsky J., Rogers W. J., Morris C., Appels R., Xia X. C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2013–2014 supplement. Available at: http://maswheat.ucdavis.edu/CGSW/2013-2014_Supplement.pdf (accessed 11.09.2017).
18. Börner A., Plaschke J., Korzun V., Worland A. J. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye. *Euphytica*, 1996, vol. 89, no. 1, pp. 69–75. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00015721>
19. Stojałowski S., Myskow B., Hanek M. Phenotypic effect and chromosomal localization of *Ddw3*, the dominant dwarfing gene in rye (*Secale cereale* L.). *Euphytica*, 2014. DOI: 10.1007/s10681-014-1173-6 (online version)
20. Kobyljanski V. D. Effect of the dominant character of short straw. *Hodowla Rosl. Aklim. Nasienn.*, 1975, vol. 19, no. 5/6, pp. 495–501.
21. Kobyljanski V. D. New selection traits of winter rye. *Geneticheskiye resursy kul'turnykh rasteniy v XXI veke. Sostoyaniye, problemy, perspektivy. Tezisy dokladov II Vavilovskoi konferentsii* [Genetic resources of cultivated plants in the 21st century. Condition, problems, prospects. Abstracts of the II Vavilov International Conference]. Sankt-Peterburg, VIR, 2007, pp. 476–477 (in Russian).
22. Peng J., Richards D. E., Hartley N. M., Murphy G. P., Devos K. M., Flintam J. E., Beales J., Fish L. J., Worland A. J., Pelica F., Sudhakar D., Christou P., Snape J. W., Gale M. D., Harberd N. P. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 1999, vol. 400, pp. 256–261. DOI: 10.1038/22307
23. Pearce S., Saville R., Vaughan S. P., Chandler P. M., Wilhelm E. P., Sparks C. A., Al-Kaff N., Korolev A., Boulton M. I., Phillips A. L., Hedden P., Nicholson P., Thomas S. G. Molecular characterization of *Rht1* dwarfing genes in hexaploid wheat. *Plant Physiology*, 2011, vol. 157, no. 4, pp. 1820–1831. DOI:10.1104/pp.111.183657
24. Li A., Yang W., Guo X., Liu D., Sun J., Zhang A. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, *Rht-B1e*, and development of an allele-specific PCR marker. *Molecular Breeding*, 2012, vol. 30, no. 3, pp. 1443–1451. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9730-y>
25. Flintam J. E., Börner A., Worland A. J., Gale M. D. Optimizing wheat grain yield effects of *Rht* (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *Journal of Agricultural Science*, 1997, vol. 128, no. 1, pp. 11–25.
26. Hoogendoorn J., Rickson J. M., Gale M. D. Differences in leaf and stem anatomy related to plant height of tall and dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Physiology*, 1990, vol. 136, no. 1, pp. 72–77. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81618-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81618-4)
27. Korzun V., Melz G., Börner A. RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, vol. 92, no. 8, pp. 1073–1077. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00224051>

Информация об авторах

Дубовец Надежда Ивановна – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.I.Dubovets@igc.by.

Сычева Елена Анатольевна – канд. биол. наук, заместитель директора по научной работе. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Sycheva@igc.by.

Дробот Надежда Игоревна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.Drobot@igc.by.

Бондаревич Елена Борисовна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.bondarevich@igc.by.

Соловей Лилия Алексеевна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lili_solovei@mail.ru.

Силкова Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (пр. Акад. Лаврентьева, 10, 630090, г. Новосибирск, Российская Федерация). E-mail: silkova@bionet.nsc.ru.

Information about the authors

Nadezhda I. Dubovets – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Chief researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.I.Dubovets@igc.by.

Elena A. Sycheva – Ph. D. (Biol.), Deputy Director for Research. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Sycheva@igc.by.

Nadezhda I. Drobot – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Drobot@igc.by.

Elena B. Bondarevich – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.bondarevich@igc.by.

Lilia A. Solovey – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (Akademicheskaya Str., 27, 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lili_solovei@mail.ru.

Olga G. Silkova – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Lavrentyev Av., 10, 630090, Novosibirsk, Russian Federation). E-mail: silkova@bionet.nsc.ru.

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 631.811

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-155-162

Поступила в редакцию 15.09.2017

Received 15.09.2017

А. В. Емельянова¹, Л. В. Обуховская², Н. Г. Аверина¹

¹*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ФОТОСИНТЕЗ И ДЫХАНИЕ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОГО РАПСА (*BRASSICA NAPUS*), ОБОГАЩЕННЫХ АНТОЦИАНАМИ, ПОД ВЛИЯНИЕМ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Аннотация. Изучены структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата, активность дыхательного процесса, содержание хлорофиллов, гема, а также активность дыхательного гемсодержащего фермента – цитохром *c*-оксидазы в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса (*Brassica napus*), выращенных на растворе 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК 200 мг/л) и обогащенных антоцианами, по сравнению с контрольными растениями. Показано, что экзогенная АЛК нарушает структуру фотосинтетического аппарата и понижает его фотосинтетическую активность. Установлено снижение содержания белков пигмент-белковых комплексов фотосистем (ФС) I и II, особенно светособирающих комплексов ФС II, составляющих внешнюю мобильную антенну. Вместе с тем отмечено значительное стимулирующее действие АЛК на дыхательную активность проростков озимого рапса, а также на увеличение содержания нековалентно связанного с белками гема и повышение активности цитохром *c*-оксидазы.

Ключевые слова: 5-аминолевулиновая кислота, *Brassica napus*, гем, цитохром *c*-оксидаза, дыхание, фотосинтез

Для цитирования: Емельянова, А. В. Фотосинтез и дыхание в растениях озимого рапса (*Brassica napus*), обогащенных антоцианами, под влиянием 5-аминолевулиновой кислоты / А. В. Емельянова, Л. В. Обуховская, Н. Г. Аверина // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 155–162. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-155-162

H. V. Yemelyanova¹, L. V. Obukhovskaya², N. G. Averina¹

¹*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

PHOTOSYNTHESIS AND RESPIRATION IN WINTER RAPE PLANTS (*BRASSICA NAPUS*) ENRICHED WITH ANTHOCYANIN'S UNDER INFLUENCE OF 5-AMINOLEVULINIC ACID

Abstract. The stimulating effect of 5-aminolevulinic acid (ALA) at a concentration of 200 mg/l on respiratory activity was established by accumulating non-covalently bound to the proteins heme and increasing the activity of the heme-containing enzyme cytochrome *c*-oxidase, as well as increasing the rate of oxygen absorption in the respiration of winter rape with high content of anthocyanin's. The inhibitory effect of ALA on the structural organization and photosynthetic activity of the photosynthetic apparatus was revealed. A decrease in the level of photosynthetic pigments – chlorophyll *a* and *b*, reduction in protein content of chlorophyll-protein complexes of two photosystems, as well as decrease in the ability of plants to release oxygen were demonstrated.

Keywords: 5-aminolevulinic acid, *Brassica napus*, heme, cytochrome *c*-oxidase, respiration, photosynthesis

For citation: Yemelyanova H. V., Obukhovskaya L. V., Averina N. G. Photosynthesis and respiration in winter rape plants (*Brassica napus*) enriched with anthocyanins under influence of 5-aminolevulinic acid. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 155–162 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-155-162

Введение. Огромное значение для жизнедеятельности всех растительных организмов имеют процессы фотосинтеза и дыхания. Эти два окислительно-восстановительных процесса, идущих в несколько стадий, обеспечивают растение веществами, а также энергией, которые необходимы для его роста и развития. Важное значение для этих процессов имеет целостность и структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата и дыхательного комплекса. Существуют различные стресс-факторы, негативное действие которых вызывает повреждение струк-

турных элементов фотосинтетического аппарата и аппарата дыхания. В стрессовых условиях процессы фотосинтеза и дыхания в растительных организмах сопровождаются образованием активных форм кислорода (АФК), которые могут разрушать клеточные мембраны, инициируя перекисное окисление липидов мембран, а также повреждать ДНК и денатурировать белки, связанные с электрон-транспортными цепями хлоропластов и митохондрий, нарушая тем самым нормальное функционирование процессов фотосинтеза и дыхания [1]. Однако стрессовым воздействиям в растительной клетке противостоит антиоксидантная защитная система, компонентами которой являются специфические ферменты, а также низкомолекулярные соединения, в том числе антоцианы.

Антоцианы (гликозиды антоцианидинов) представляют собой производные катиона флавилия (2-фенилбензопирилия) и относятся к наиболее распространенной и многочисленной группе фенольных соединений – флавоноидам [2]. Это нефотосинтетические пигменты, которые накапливаются в вакуолях клетки, а также встречаются в кристаллическом виде в некоторых видах растений. Биосинтез антоцианов строго контролируется и часто происходит в тканях, удаленных от тех, которые связаны с синтезом других флавоноидов [3]. Антоциановые пигменты являются наиболее универсальными из всех пигментов и обладают огромным разнообразием функций, многие из которых связаны в первую очередь с ответом растений на стрессовые воздействия. Показано, что антоцианы во многих видах растений уменьшают как частоту, так и степень фотоингибирования, а также ускоряют восстановление фотосинтетического аппарата растений [4]. При высокой освещенности антоцианы действуют как оптический фильтр, защищая уже насыщенный электрон-транспортную цепь от избыточных квантов света с высокой энергией. Они снижают накопление супероксид анион-радикала, ослабляя тем самым структурное повреждение клеточных мембран [5]. Показано, что очищенные растворы антоцианов удаляют практически все виды активных форм кислорода и азота с эффективностью в 4 раза большей, чем аскорбат и α -токоферол [6]. Кроме того, антоцианы принимают участие в процессе дыхания растений в качестве переносчиков электронов [7]. Антоциановые пигменты в ходе ацилирования активно поглощают в УФ-области, защищая растения (в частности, генетический аппарат) от губительного воздействия УФ-лучей [8].

Большое значение антоцианы имеют и для человека. Они активно используются в фармакологической, косметической и пищевой промышленности в качестве биологически активных компонентов и натуральных красителей. Антоцианы обладают широким спектром биологической активности, демонстрируя окислительно-восстановительные, антиоксидантные, противовоспалительные, нейропротектные свойства, а кроме того, они снижают риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных образований, улучшают зрение и состояние сосудов. В настоящее время проводится множество исследований по поиску новых, дешевых и доступных источников антоцианов, а также соединений, стимулирующих их синтез. Имеется ряд публикаций о стимуляции накопления антоцианов под действием 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) в кожуре яблок [9] и в листьях голосеменного реликтового растения гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba*) [10]. Нами установлено, что при выращивании растений озимого рапса на растворах АЛК в концентрациях от 50 до 200 мг/л в семядольных листьях, а также в гипокотелях накапливаются значительные по сравнению с контрольными растениями количества антоцианов [11]. АЛК – универсальный предшественник в биосинтезе всех циклических и линейных тетрапирролов, в том числе хлорофиллов (Хл) и гемов. Она является естественным метаболитом и агентом, формирующим устойчивость растений к абиотическим факторам среды, а также стимулятором роста и развития растений [12].

Цель данной работы – изучение влияния 5-аминолевулиновой кислоты на фотосинтез, дыхание и содержание участвующих в этих процессах пигментов – хлорофиллов, гема и белковых компонентов пигмент-белковых комплексов фотосинтетического аппарата, а также активности цитохром *c*-оксидазы в растениях озимого рапса, обогащенных антоцианами.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали 4–7-дневные проростки растений озимого рапса (*Brassica napus*) сорта Зорны, которые выращивали в лабораторных условиях либо на воде, либо на растворе АЛК (200 мг/л). Семена проращивали в пласти-

ковых контейнерах на фильтровальной бумаге при температуре 26 ± 2 °C и освещении люминесцентными лампами типа ЛД-40 (освещенность 4900 лк). Для анализа использовали семядольные листья проростков.

Содержание основных фотосинтетических пигментов – Хл *a* и Хл *b* определяли согласно методу, приведенному в работе [13]. Пигменты экстрагировали 85 %-ным щелочным ацетоном (ацетон:NH₄OH). Содержание Хл оценивали по спектрам поглощения экстрактов листьев.

Активность дыхания регистрировали с использованием системы PlantVital 5030 (Германия). Половину семядольного листа озимого рапса помещали на электрод в камеру прибора. Измерение проводили сначала в темноте (измерение дыхательной активности), затем при освещении камеры (измерение фотосинтетической активности). Скорость дыхания (потребление кислорода) и скорость фотосинтеза (выделение кислорода) оценивали в мкмоль O₂/(мг·с) [14].

Содержание белков пигмент-белковых комплексов (ПБК) фотосистем (ФС) I и II определяли с помощью вестерн-блот анализа. Экстракцию из проростков озимого рапса белков и их электрофоретическое разделение в полиакриламидном геле и иммуноблотинг проводили согласно методике, описанной в работе [15]. Белки экстрагировали раствором, содержащим 56 мМ ДТТ, 56 мМ Na₂CO₃, 12 %-ную сахарозу, 2 мМ ЕДТА и 2 % SDS-Na. Гомогенат центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную фракцию использовали для денатурирующего гель-электрофореза. После разделения белков осуществляли их перенос с геля на нитроцеллюлозную мембрану. Содержание белков на нитроцеллюлозной мембране определяли с помощью антител на белок D1 (реакционный центр ФС II), а также на белки светособирающих комплексов ФС I (Lhca1, Lhca2, Lhca3, Lhca4) и ФС II (Lhcb1, Lhcb2, Lhcb5, Lhcb6).

Содержание нековалентно связанного с белками гема определяли согласно методу, приведенному в работе [16]. Пигменты из гомогената растительной ткани экстрагировали щелочным ацетоном. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин. Осадок промывали щелочным ацетоном и центрифугировали до полного удаления хлорофилла. Затем осадок промывали 2 раза смесью ацетон:НСl:DMCO (10:0,5:2, V:V:V) по 5 мл, выдерживали 5 мин в холодильнике (или на льду) и центрифугировали при 7000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант сливали во флаконы объемом 50 мл, добавляли 3 мл диэтилового эфира, 2 мл насыщенного NaCl, 10 мл дистиллированной воды и давали отстояться. Затем снимали верхнюю фракцию эфира, содержащую гем, и добавляли к ней 0,7 мл спирта. Экстракт наносили на заполненную сефарозой колонку и последовательно промывали ее 5 мл смеси диэтиловый эфир:этанол (3:1, V:V), 4 мл смеси диэтиловый эфир:этанол (1:1, V:V) и 3 мл этанола. Гем промывали 6 мл смеси этанол:уксусная кислота:H₂O (9:1:1, V:V:V). Элюат собирали в эппендорфы (6 шт.), по 1 мл в каждый. Количество гема определяли спектрофотометрически при длине волны 398 нм и выражали в нмоль/г сырой массы (при расчетах использовали молярный коэффициент экстинкции 144 мМ⁻¹·см⁻¹).

Активность цитохром *c*-оксидазы (ЦО) оценивали согласно методу, описанному в работе [17]. Навеску растительного материала экстрагировали на холоду 0,1 М К₂Na-фосфатным буфером, содержащим Тритон X-100. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 об/мин. Полученный супернатант использовали для анализа. Активность фермента определяли спектрофотометрически при длине волны 550 нм. Активность ЦО рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции 29,5 мМ⁻¹·см⁻¹.

Статистические данные обрабатывали с помощью программы Excel 2010. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами показано, что в семядольных листьях растений озимого рапса, выращенных на растворе АЛК 200 мг/л, накапливаются избыточные количества антоцианов, в 3,5 раза превышающие их содержание в контрольных растениях [11]. Поскольку АЛК является предшественником Хл и гемов, с помощью биосинтеза изучена возможность использования экзогенной АЛК в образовании Хл *a*, Хл *b* и гема в растениях озимого рапса, выращенных на растворе АЛК 200 мг/л, а также в контрольных растениях. Обработка АЛК не привела к возрастанию содержания пигментов хлорофильной природы, напротив, отмечалась тенденция к уменьшению их количества по сравнению с контролем. Так, снижение уровня Хл *a* по отношению к контролю на 4-й день вегетации составило 44 %, на 5-й – 37, на 6-й и 7-й – 31 и 24 % соот-

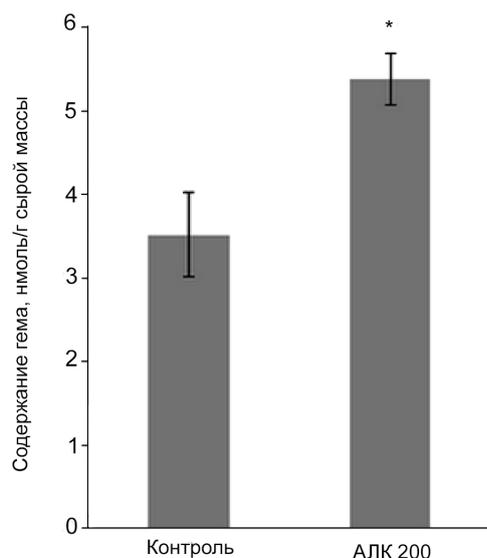


Рис. 1. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на содержание гема в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса. * – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$

Fig. 1. Effect of exogenous ALA (200 mg/l) on heme content in cotyledon leaves of 7-day-old winter rape plants. * – differences in comparison with the control are significant at $p < 0.05$

Дефицит Хл *a* и Хл *b* на всех стадиях развития проростков варианта «АЛК» свидетельствует о том, что экзогенная аминокислота либо не использовалась в синтезе этих пигментов, либо использовалась в очень ограниченных количествах. Отмеченное нами ингибирование скорости накопления Хл в присутствии экзогенной АЛК могло быть вызвано подавлением в этих условиях синтеза эндогенной АЛК в результате избыточного накопления гема – ингибитора ключевого фермента синтеза АЛК – глут-тРНК редуктазы [12]. Функционирование этого механизма может рассматриваться в качестве защитного против избыточного накопления в присутствии экзогенной АЛК порфиринов-фотосенсибилизаторов. Противоположное влияние экзогенной АЛК на синтез двух тетрапиролов – Хл и гема, еще раз подтверждает высказанную нами ранее концепцию о независимом функционировании, физическом разделении и разных механизмах контроля систем синтеза Хл и гема в хлоропласте, начиная от образования АЛК [12]. Разная компартиментализация обеих систем в структуре хлоропласта недавно была подтверждена Czarneski с соавт. [19].

Неспособность экзогенной АЛК восполнять уровень Хл хотя бы до значений контрольных проростков может быть также связана с субстратным ингибированием АЛК-дегидратазы – фермента, осуществляющего конденсацию двух молекул АЛК с образованием порфобилиногена. Изучение этого вопроса станет предметом наших дальнейших исследований.

Поскольку Хл и гем являются непосредственными участниками фотосинтеза и дыхания, изучены также активность обоих процессов, состав Хл-белковых комплексов фотосинтетического аппарата и активность ключевого гемсодержащего дыхательного фермента ЦО.

Опыты по определению содержания белков ПБК фотосинтетического аппарата в проростках озимого рапса показали, что обработка экзогенной АЛК приводит к снижению содержания белка D1 ФС II на 48 % по сравнению с контролем. Также отмечено снижение содержания белков светособирающих комплексов ФС I (Lhca1 – на 73 %, Lhca2 – на 51, Lhca3 – на 56, Lhca4 – 65 %) и ФС II (Lhcb1 – на 27 %, Lhcb2 – на 33, Lhcb5 – на 70, Lhcb6 – на 59 %) по сравнению с их содержанием в растениях, выращенных на воде (рис. 2). Следует отметить наибольшее влияние АЛК на мобильную внешнюю антенну ФС II – белки Lhcb1 и Lhcb2 (рис. 2), которые, входя в состав тримера, могут мигрировать от ФС II в область ФС I и ассоциироваться с ее внешней антенной.

Также при выращивании растений на растворе экзогенной АЛК выявлено снижение в них уровня Хл *b* по сравнению с контролем на 38 % на 4-й день вегетации озимого рапса и на 27 % на 5-й и 6-й дни. Как и в случае Хл *a*, наименьшая разница между вариантами отмечалась на 7-й день вегетации – уровень Хл *b* снизился на 21 % относительно такового в контрольных образцах.

Оценено также содержание нековалентно связанного с белками гема в 7-дневных проростках растений озимого рапса, выращенных на воде и на растворе АЛК. Установлено, что содержание гема в проростках, выращенных на растворе АЛК, возросло на 58 % относительно контроля – до $5,38 \pm 0,3$ нмоль/г сырой массы (рис. 1).

Нековалентно связанный с белками гем (гем *a*- и *b*-типа) составляет основную часть клеточного гема. Так, на его долю приходится 2/3 от общего количества митохондриального гема, а в хлоропластах его содержание в 3 раза превышает количество ковалентно связанного гема (гема *c*) [18]. Нековалентно связанный с белками гем является компонентом цитохромов, пероксидаз и цитохром *c*-оксидазы. Отмеченное нами значительное возрастание уровня гема может сказаться на содержании, а следовательно, и на активности ключевого дыхательного фермента ЦО и ферментов, участвующих в детоксикации H_2O_2 .

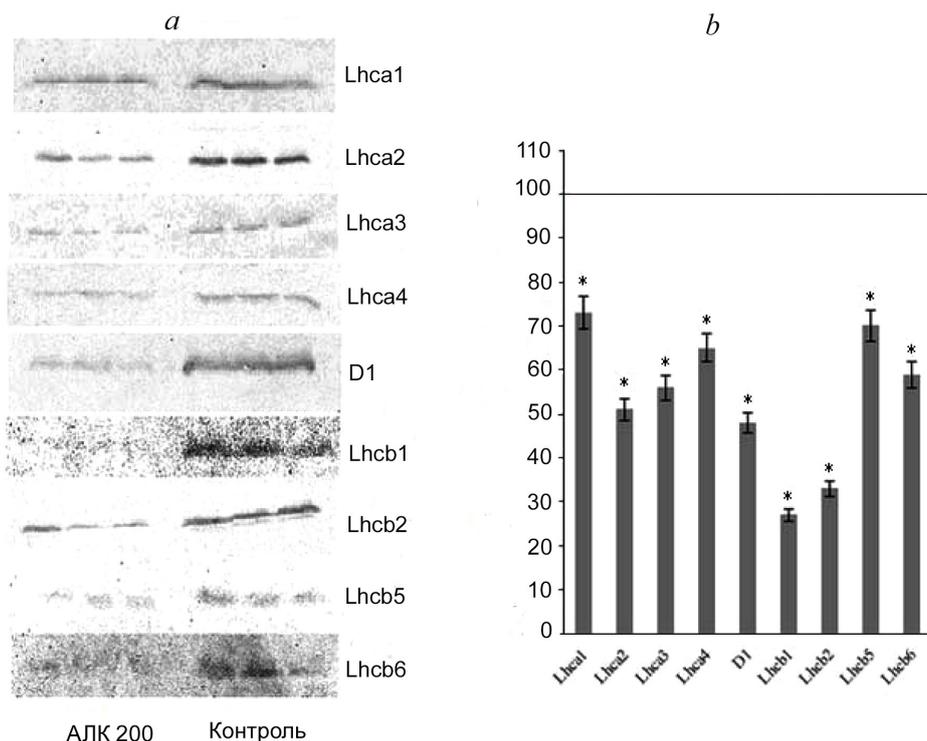


Рис. 2. Вестерн-блот анализ белков ПБК фотосинтетического аппарата растений озимого рапса, выращенных на воде и растворе АЛК 200 мг/л (а), а также количественная оценка их содержания (b). За 100 % принято содержание белков ПБК в контроле. * – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$

Fig. 2. Western -blot analysis of PPC proteins of the photosynthetic apparatus of winter rape plants grown on water and on solution of ALA 200 mg/l (a) and a quantitative assessment of their content (b). 100 % corresponds to the content of PPC proteins in the control. * – differences in comparison with the control are significant at $p < 0.05$

Значительное снижение содержания этих белков может отрицательно сказываться на перераспределении энергии между двумя ФС.

В опытах, проведенных с целью изучения активности дыхания и скорости чистой продукции кислорода в семядольных листьях озимого рапса, установлено, что в растениях, выращенных на экзогенной АЛК, фотосинтетическая активность на 22 % ниже по сравнению с контролем (в среднем $0,0074$ мкмоль $O_2/(мг \cdot с)$). Вместе с тем обработка экзогенной АЛК оказала существенное влияние на дыхательную активность проростков. Скорость потребления кислорода в опытных растениях составила $0,0105$ мкмоль $O_2/(мг \cdot с)$, что в 1,9 раза превышало таковую в контрольных растениях.

Коэффициент фотосинтетической эффективности (рассчитывается как скорость выделения кислорода/скорость темнового дыхания) оказался на 44 % ниже в растениях варианта «АЛК», что подтверждает отмеченную выше стимуляцию дыхательной активности и ингибирование фотосинтетической в опытных растениях (рис. 3, а).

Представленный на рис. 3, b показатель активности дыхательного гемсодержащего фермента ЦО в варианте «АЛК» составил $15,72 \pm 5,9$ нмоль/(мкг белка·мин), что в 5 раз больше, чем в контрольных растениях, выращенных на воде.

Ранее нами был выявлен комплекс метаболических перестроек защитной системы растений озимого рапса, выращенных на растворе экзогенной АЛК в концентрациях, характерных для ее действия как фотодинамического гербицида (50–200 мг/л). Эти изменения проявились в накоплении эффективных антиоксидантов – антоцианов (вследствие возрастания активности ключевого фермента биосинтеза антоцианов дигидрофлавонолредуктазы), а также в стимуляции образования антистрессора пролина и возрастании антирадикальной и антиоксидантной активности [20].

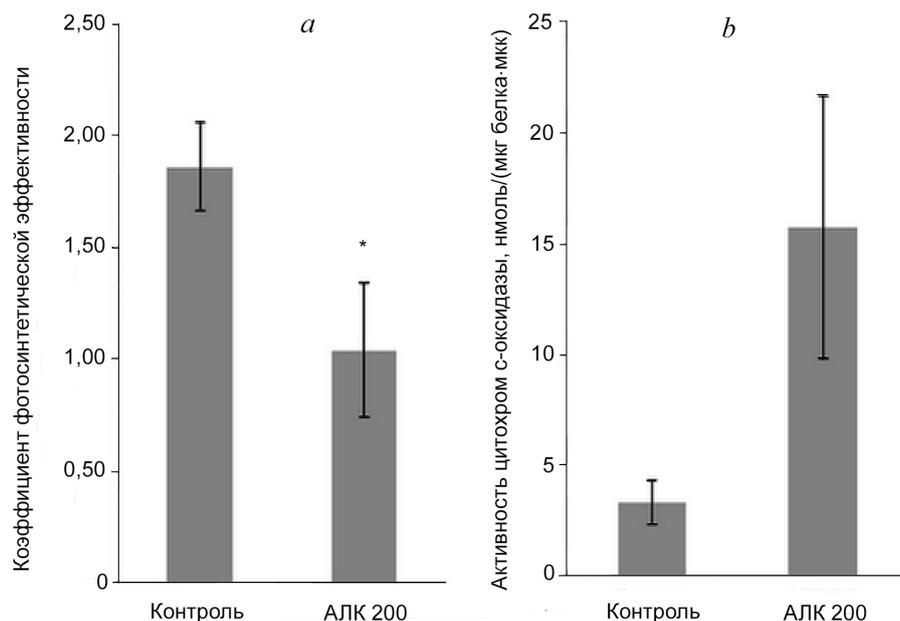


Рис. 3. Влияние экзогенной АЛК (200 мг/л) на коэффициент фотосинтетической эффективности (а) и активность цитохром с-оксидазы (b) в семядольных листьях 7-дневных растений озимого рапса. * – различия по сравнению с контролем достоверны при $p < 0,05$

Fig. 3. The influence of exogenous ALA (200 mg/l) on the factor of photosynthetic efficiency (a) and cytochrome c-oxidase activity (b) in cotyledon leaves of 7-day-old winter rape plants. * – differences in comparison with the control are significant at $p < 0.05$

В ходе исследований установлено снижение в растениях, обработанных 200 мг/л АЛК, содержания Хл а, Хл b и ассоциированных с ними белков двух ФС, приведшее к снижению эффективности фотосинтеза и, следовательно, к продукции энергетического субстрата – молекул АТФ. В этих условиях интенсификация дыхательного процесса как основного источника энергии при сниженном фотосинтезе обеспечивалась повышением уровня компонента дыхательных цитохромов – гема, а также активацией гемсодержащего фермента ЦО.

Заключение. Выявлено, что в растениях озимого рапса, выращенных на растворе экзогенной АЛК в концентрации 200 мг/л и обогащенных антоцианами, ингибирование фотосинтеза обусловлено снижением уровня фотосинтетических пигментов, а также способности формировать структурные компоненты фотосинтетического аппарата – ПБК ФС I и II. В варианте «АЛК» отмечено развитие компенсаторных реакций, выражающихся в возмещении нарушений фотосинтетической функции. В частности, показано увеличение под действием АЛК дыхательной активности, обеспечиваемой стимуляцией биосинтеза нековалентно связанного с белками гема и возрастанием активности гемсодержащего фермента ЦО.

Список использованных источников

1. Møller, I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species / I. M. Møller // *Annu. Rev. of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 52. – P. 561–591.
2. Чупахина, Г. Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект) / Г. Н. Чупахина, П. В. Масленников, Л. Н. Скрыпник. – Калининград: Балт. федер. ун-т, 2011. – 112 с.
3. Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn / K. S. Gould [et al.] // *J. of Experimental Botany*. – 2000. – Vol. 51, N 347. – P. 1107–1115.
4. Field, T. S. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood / T. S. Field, D. W. Lee, N. M. Holbrook // *Plant Physiology*. – 2001. – Vol. 127, N 2. – P. 566–574.
5. Neill, S. O. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? / S. O. Neill, K. S. Gould // *Functional Plant Biology*. – 2003. – Vol. 30, N 8. – P. 865–873.
6. Wang, H. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins / H. Wang, G. Cao, R. L. Prior // *J. of Agr. and Food Chemistry*. – 1997. – Vol. 45, N 2. – P. 304–309.
7. Карабанов, И. А. Флавоноиды в мире растений / И. А. Карабанов. – Минск: Ураджай, 1981. – 80 с.

8. Giusti, M. M. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins / M. M. Giusti, L. E. Rodriguez-Saona, R. E. Wrolstad // *J. of Agr. and Food Chemistry*. – 1999. – Vol. 47, N 11. – P. 4631–4637.
9. 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples / L. Xie [et al.] // *Plant Growth Regulation*. – 2013. – Vol. 69, N 3. – P. 295–303.
10. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the antioxidant system in Ginkgo biloba leaves / F. Xu [et al.] // *African J. of Biotechnology*. – 2009. – Vol. 8, N 16. – P. 3769–3776.
11. Емельянова, А. В. Роль экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты в индукции накопления антоцианов в растениях озимого рапса / А. В. Емельянова // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2016. – № 3. – С. 66–69.
12. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 413 с.
13. Шлык, А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев / А. А. Шлык // *Биохимические методы в физиологии* : сб. ст. / отв. ред. О. А. Павлинова. – М., 1971. – С. 154–170.
14. Использование экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты для восстановления дыхания и фотосинтеза у растений озимого рапса (*Brassica napus*), выращиваемых на сульфонилмочевинном гербициде / Н. Г. Аверина [и др.] // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2015. – № 3. – С. 23–27.
15. Kruse, E. Coproporphyrinogen III oxidase from barley and tobacco – sequence analysis and initial expression studies / E. Kruse, H-P. Mock, B. Grimm // *Planta*. – 1995. – Vol. 196, N 4. – P. 796–803.
16. Weinstein, J. D. Separate physiological roles and subcellular compartments for two tetrapyrrole biosynthetic pathways in *Euglena gracilis* / J. D. Weinstein, S. I. Beale // *J. of Biol. Chemistry*. – 1983. – Vol. 258, N 11. – P. 6799–6807.
17. Role of sugars and organic acids in regulating the concentration and activity of the alternative oxidase in *Poa annua* roots / F. F. Millenaar [et al.] // *J. of Experimental Botany*. – 2002. – Vol. 53, N 371. – P. 1081–1088.
18. Яронская, Е. Б. Молекулярно-мембранные механизмы регуляции биосинтеза тетрапирролов в растениях : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.02 ; 03.00.04 / Е. Б. Яронская. – Минск, 2008. – 407 л.
19. An Arabidopsis GluTR binding protein mediates spatial separation of 5-aminolevulinic acid synthesis in chloroplast / O. Czarnecki [et al.] // *Plant Cell*. – 2011. – Vol. 23, N 12. – P. 4476–4491.
20. Индукция накопления антоцианов и состояние защитной системы в растениях озимого рапса, обработанных 5-аминолевулиновой кислотой / Н. Г. Аверина [и др.] // *Физиология растений*. – 2017. – Т. 64, № 3. – С. 173–182.

References

1. Møller I. M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, vol. 52, pp. 561–591. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.561
2. Chupakhina G. N., Maslennikov P. V., Skrypnik L. N.. *Natural antioxidants (ecological aspect)*. Kaliningrad, Baltic Federal University, 2011. 112 p. (in Russian).
3. Gould K. S., Markham K. R., Smith R. H., Goris J. J. Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn. *Journal of Experimental Botany*, 2000, vol. 51, no. 347, pp. 1107–1115. DOI: 10.1093/jexbot/51.347.1107
4. Feild T. S., Lee D. W., Holbrook N. M. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiology*, 2001, vol. 127, no. 2, pp. 566–574. DOI: 10.1104/pp.127.2.566
5. Neill S. O., Gould K. S. Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Functional Plant Biology*, 2003, vol. 30, no. 8, pp. 865–873. DOI: 10.1071/FP03118
6. Wang H., Cao G., Prior R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, vol. 45, no. 2, pp. 304–309. DOI: 10.1021/jf960421t
7. Karabanov I. A. *Flavonoids in the world of plant*. Minsk, Uradzhai Publ., 1981. 80 p. (in Russian).
8. Giusti M. M., Rodriguez-Saona L. E., Wrolstad R. E. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, vol. 47, no. 11, pp. 4631–4637. DOI: 10.1021/jf981271k
9. Xie L., Wang Z. H., Cheng X. H., Gao J. J., Zhang Z. P., Wang L. J. 5-Aminolevulinic acid promotes anthocyanin accumulation in Fuji apples. *Plant Growth Regulation*, 2013, vol. 69, no. 3, pp. 295–303. DOI: 10.1007/s10725-012-9772-5
10. Xu F., Chang J., Cheng Sh.Y., Zhu J., Li L. L., Wang Y., Cheng H. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the antioxidant system in Ginkgo biloba leaves. *African Journal of Biotechnology*, 2009, vol. 8, no. 16, pp. 3769–3776.
11. Emel'yanova A. V. The role of exogenous 5-aminolevulinic acid in inducing the accumulation of anthocyanins of plants winter rape. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Ceryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 3, pp. 66–69 (in Russian).
12. Averina N. G., Yaron'skaya E. B. *Biosynthesis of tetrapyrroles in plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 413 p. (in Russian).
13. Shlyk A. A. Determination of chlorophylls and carotenoids in extracts of green leaves. *Biokhimicheskie metody v fiziologii: sbornik statei* [Biochemical methods in plant physiology: a collection of articles], 1971, pp. 154–170 (in Russian).
14. Averina N. G., Shcherbakov R. A., Vershilovskaya I. V., Domanskaya I. N. The use of exogenous 5-aminolevulinic acid of respiration and photosynthesis in plants of winter rape (*Brassica napus*) grown on a sulfonylurea herbicide. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Ceryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2015, no. 3, pp. 23–27 (in Russian).

15. Kruse E., Mock H-P., Grimm B. Coproporphyrinogen III oxidase from barley and tobacco – sequence analysis and initial expression studies. *Planta*, 1995, vol. 196, pp. 796–803. DOI: 10.1007/BF01106776
16. Weinstein J. D., Beale S. I. Separate physiological roles and subcellular compartments for two tetrapyrrole biosynthetic pathways in *Euglena gracilis*. *Journal of Biological Chemistry*, 1983, vol. 258, no. 11, pp. 6799–6807.
17. Millenaar F. F., Gonzalez-Meler M. A., Siedow J. N., Wagner A. M., Lambers H. Role of sugars and organic acids in regulating the concentration and activity of the alternative oxidase in *Poa annua* roots. *Journal of Experimental Botany*, 2002, vol. 53, no. 371, pp. 1081–1088. DOI: 10.1093/jexbot/53.371.1081
18. Yaronskaya E. B. *Molecular-membrane mechanisms of biosynthesis regulation of tetrapyrroles in plants*. Ph. D. Thesis. Minsk, 2008. 407 p. (in Russian).
19. Czarnecki O., Hedtke B., Melzer M., Rothbart M., Richter A., Schroter Y., Pfannschmidt T., Grimm B. An Arabidopsis GluTR binding protein mediates spatial separation of 5-aminolevulinic acid synthesis in chloroplast. *Plant Cell*, 2011, vol. 23, no. 12, pp. 4476–4491. DOI: 10.1105/tpc.111.086421
20. Averina N. G., Sherbakov R. A., Yemelyanova H. V., Domanskaya I. N., Usatov A. V. Induction of anthocyanin accumulation and status of protective system in winter rape plants treated with 5-aminolevulinic acid. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, vol. 64, no. 3, pp. 310–318. DOI: 10.1134/s1021443717030025

Информация об авторах

Емельянова Анна Викторовна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yashchuk.anna@mail.ru.

Обуховкая Людмила Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники имени Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nan.botany@yandex.by.

Аверина Наталия Георгиевна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: averina_ng@tyt.by.

Information about the authors

Hanna V. Yemelyanova – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yashchuk.anna@mail.ru.

Lyudmila V. Obukhovskaya – Ph. D. (Biol.), Leading Scientific Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nan.botany@yandex.by.

Natalia G. Averina – D. Sc. (Biol.), Chief Researcher, Professor. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: averina_ng@tyt.by.

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.14:(632.51+633/635)

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-163-170

Поступила в редакцию 30.11.2017

Received 30.11.2017

В. Н. Прохоров

*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ АДВЕНТИВНЫХ ВИДОВ С ВЫСОКОЙ ИНВАЗИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ ВО ФЛОРЕ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Изучено влияние водных экстрактов, полученных из сухой биомассы растений адвентивных видов с высокой инвазионной активностью, произрастающих в Беларуси, на рост проростков тест-культур. Отмечена высокая корреляция между степенью влияния выделяемых из семян борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) биологически активных веществ на различные виды растений и их принадлежностью к определенным семействам. Показано их сильное стимулирующее действие на представителей из семейства Крестоцветные (Cruciferae). Виды из семейства Злаковые в основном характеризуются нейтральной реакцией на выделяемые из семян борщевика Сосновского биологически активные вещества. Установлено, что воздействие концентраций водных экстрактов, полученных из изученных видов растений, в пределах от 0,01 до 0,001 % стимулирует рост и развитие тест-культур, а воздействие концентраций в диапазоне от 1 до 10 % оказывает в основном ингибирующее влияние.

Ключевые слова: аллелопатия, адвентивные виды, инвазионная активность, тест-культуры

Для цитирования: Прохоров, В. Н. Аллелопатический потенциал адвентивных видов с высокой инвазионной активностью во флоре Беларуси / В. Н. Прохоров // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 163–170. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-163-170

V. N. Prokhorov

*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

ALLELOPATHIC POTENTIAL OF ADVENTIVE SPECIES WITH HIGH INVASIVE ACTIVITY IN FLORA OF BELARUS

Abstract. The results show the effect of water extracts from dry biomass of adventive plant species with high invasive activity from Belarus on the growth of seedlings of test plants. High correlation between the effect of biologically active substances released from the seeds of *Heracleum sosnowskyi* Manden on various test plants and plant species is discussed. The strong stimulating effect of water extracts on plant species from Cruciferae family is shown. Plant species from Poaceae family are mainly characterized by a neutral reaction to the biologically active substances emitted from *H. sosnowskyi* seeds. It has been found that water extracts at the concentrations from 0.01 to 0.001 % have a stimulatory effect on the growth and development of test plants, while an inhibitory effect was observed at the concentrations in the range from 1 to 10 %.

Keywords: allelopathy, adventive species, invasive activity, test plants

For citation: Prokhorov V. N. Allelopathic potential of adventive species with high invasive activity in flora of Belarus. *Vesti Natsyunal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya byalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 163–170 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-163-170

Введение. На территории Республики Беларусь на фоне глобального изменения климата отмечается существенное увеличение численности популяций инвазионных видов. Одним из свойств, позволяющих им вытеснять аборигенные виды и занимать новые экологические ниши, является их высокая аллелопатическая активность [1–5]. В настоящее время большинство инвазионных видов практически не используется в народном хозяйстве ввиду их слабой изученности. В этой связи комплексная оценка аллелопатического потенциала адвентивных видов Беларуси с высокой инвазионной активностью с целью поиска путей ограничения их распространения и использования в хозяйственных целях является перспективным направлением [5–7].

Изучению аллелопатических свойств различных видов растений, в том числе инвазионных, уделяется большое внимание [8–10]. Отмечается, что аллелопатия выполняет регуляторную функцию онтогенетического развития и фитоценотического взаимодействия [1], а выделяемые в процессе роста и развития растений вторичные метаболиты могут служить основой для разра-

ботки экологически безопасных биопрепаратов нового поколения [11–13]. В зависимости от видового и сортового состава компонентов, а также от их концентрации биологически активные вещества могут являться как стимуляторами, так и ингибиторами прорастания семян [9]. В ряде исследований показана возможность применения аллелопатических веществ растений в качестве биопестицидов [14–16]. Так, соединения, выделяемые некоторыми видами из семейств Acanthaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Brassicaceae, Magnoliaceae, обладают выраженными противогрибковыми свойствами, из семейств Compositae, Poaceae, Papilionaceae – нематоцидными свойствами [17]. Число работ, посвященных этому вопросу, с каждым годом увеличивается [18–28], что также указывает на большую перспективность исследований в данном направлении.

Цель работы – оценка аллелопатического потенциала адвентивных видов с высокой инвазивной активностью во флоре Беларуси.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования выбраны адвентивные виды с высокой инвазивной активностью во флоре Беларуси: борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden), галинзога мелкоцветковая (*Galinsoga parviflora* Cav.), золотарник канадский (*Solidago canadensis* L.), мелколепестник канадский (*Coniza canadensis* (L.) Crong.), недотрога мелкоцветковая (*Impatiens parviflora* DC), рейнутрия японская (*Reynoutria japonica* Houtt.), рейнутрия сахалинская (*Reynoutria sachalinensis* (Fr. Schmidt. ex Maxim.) Nakai), череда олиственная (*Bidens frondosa* L.), щавель конский (*Rumex confertus* Willd.), эхиноцистис лопастной (*Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et Gray).

Отбор проб растительного материала и почвы проводили в местах нахождения популяций на территории г. Минска и в Дзержинском, Минском и Смолевичском районах Минской области.

Аллелопатическую активность определяли на основе влияния водных экстрактов, полученных из сухой биомассы различных органов [3–5], на прорастание и рост проростков тест-культур (кресс-салат обыкновенный, редис (сорт Французский завтрак)) и ряда видов и сортов культурных и дикорастущих растений, таких как яровой ячмень (сорта Бровар, Водар, Гонар, Магутны, Сталы, Сябра, Фест), яровая пшеница (сорта Василиса, Ростань, Сабина, Сударыня), яровое тритикале (сорта Лана, Садко, Узор), озимая пшеница (сорта Легенда, Спектр, Сюита), озимое тритикале (Мара, Михась, Рунь), просо (сорта Галинка, Днепровское), райграсс однолетний (сорт Ивацевичский местный), райграсс пастбищный (сорт Пашавы), лисохвост луговой (сорт Криничный), овсяница луговая (сорт Зорка), овсяница красная (сорт Пяшчотная), ежа сборная (сорт Магутная), фестулолиум (сорт Удзячны), яровой рапс (сорта Водолей, Гермес, Магнат, Кромань, Явар), озимый рапс (сорта Арсенал, Добродей, Зорный, Лидер, Прогресс), горчица белая (сорта Южанка, Ярынка), репа (сорт Петровская), редька черная (сорт Зимняя), клевер луговой (Витебчанин), люцерна посевная (сорт Буручаня), вика посевная (сорта Мила, Натали, Удача), гречиха посевная (сорт Марта), люпин узколистный (сорта Миртан, Хволько, Жодинский, Ян), люпин многолистный (*Lupinus polyphyllus* Lindl.), ярутка полевая (*Thlaspi arvense* L.), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* L.), пырей ползучий (*Elytrigia repens* L.).

Семена проращивали в чашках Петри в термостате при температуре 22 °С. В каждую чашку добавляли по 2 мл суммарного препарата различной концентрации, в контрольные чашки – 2 мл дистиллированной воды. В каждую чашку Петри помещали по 20 семян тест-культур. Оценку аллелопатического влияния водных экстрактов, полученных из различных органов (семена, стеблекорень, корневище, корни, листовые пластинки, черешки, соцветия) модельных инвазивных видов (на разных этапах онтогенеза) на энергию прорастания, всхожесть и линейный рост анализируемых тест-культур проводили согласно ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести».

Кроме того, оценивали влияние набухающих семян борщевика, а также их плодовых оболочек на прорастание семян различных культурных растений. С этой целью их проращивали совместно с нестратифицированными (способными к набуханию, но не прорастающими) семенами борщевика Сосновского в термостате при температуре 22 °С в чашках Петри на фильтровальной бумаге. В каждую чашку Петри помещали по 30 семян одного вида (контроль) или по 15 семян борщевика Сосновского и 15 семян исследуемого вида (соотношение 1:1).

Результаты и их обсуждение. На основе полученных экспериментальных данных построена корреляционная матрица, показывающая степень влияния биологически активных веществ,

выделяющихся при набухании семян борщевика Сосновского, на процессы роста и развития других видов и сортов растений на первых этапах онтогенеза. Установлена высокая корреляция между степенью влияния выделяемых из семян борщевика Сосновского биологически активных веществ и принадлежностью тест-культур к определенным семействам (см. таблицу).

**Влияние набухающих семян борщевика Сосновского
на рост проростков различных видов и сортов растений**
**The effect of the swelling seeds of *H. sosnowskyi* on the seedling growth
of various plant species and varieties**

Культура, вид	Характер и направление взаимодействия
<i>Зерновые культуры</i>	
Яровой ячмень	0...+30 %
Яровая пшеница	+20...40 %
Яровое тритикале	0...+20 %
Озимая пшеница	0...+20 %
Озимое тритикале	0...+20 %
<i>Злаковые травы</i>	
Райграс однолетний	0...+10 %
Райграс пастбищный	0...+10 %
Лисохвост луговой	0 %
Овсяница луговая	0 %
Овсяница красная	0 %
Ежа сборная	0 %
Фестулолиум	0...+10 %
Пырей ползучий	0 %
<i>Бобовые травы</i>	
Клевер луговой	-50 %
Люцерна посевная	-30 %
<i>Зернобобовые</i>	
Люпин узколистый	-10...0 %
Люпин многолетний	0 %
<i>Крестоцветные</i>	
Яровой рапс	+50...70 %
Озимый рапс	+40...70 %
Горчица белая	+20...60 %
Редис	+30 %
Репа	+60 %
Ярутка полевая	+50 %
Пастушья сумка обыкновенная	+10 %
<i>Крупяные</i>	
Гречиха посевная	+20 %

Так, выявлено значительное стимулирующее действие набухающих семян борщевика Сосновского на всхожесть и рост проростков различных видов растений из семейства Крестоцветные (Стусіферае), особенно на различные сорта ярового рапса. При этом отмечалась и большая сорто-специфичность действия (рис. 1). Выявлено также значительное стимулирующее влияние набухающих семян борщевика на рост проростков и ряда других видов из семейства Крестоцветные – у редиса длина проростков составила 121,1 % в сравнении с контролем, у репы – 155,5 %. Аналогичное действие наблюдалось также и в опытах с дикорастущими видами этого семейства в период прорастания. Наибольший эффект отмечался у проростков ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.), линейный размер которых составил более 144,7 % от контроля.

Как видно из табл. 1, изученные виды злаковых трав, так же как зерновые злаки в период прорастания их семян, в основном проявляют нейтральную реакцию на вещества, выделяемые набухающими семенами борщевика Сосновского. Это указывает на то, что при планировании

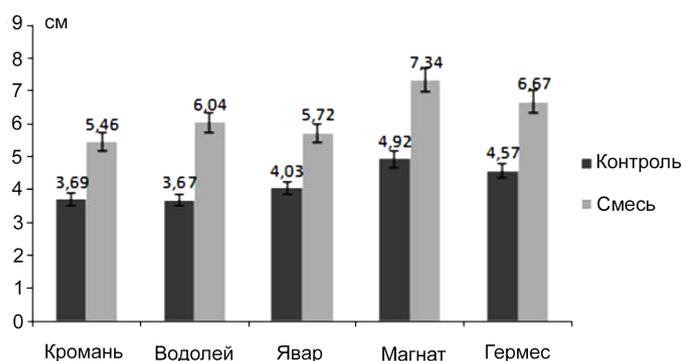


Рис. 1. Влияние набухающих семян борщевика Сосновского на рост проростков различных сортов ярового рапса

Fig. 1. The effect of the swelling seeds of *H. sosnowskyi* on the seedling growth of various varieties of spring oilseed rape

состава травосмесей при рекультивации земель после проведения мероприятий по ограничению численности борщевика Сосновского в первую очередь следует уделять внимание таким показателям злаковых трав, как скорость прорастания семян и формирования максимальной листовой поверхности, степень фитоценотической агрессивности и устойчивость к частому скашиванию травостоя. Такие смеси должны включать 30–50 % семян райграса (10–15 % однолетнего и 20–35 % пастбищного), 20–30 % семян гибрида овсяницы с райграсом – фестулолиума, 10–20 % семян овсяницы красной, 5–10 % семян овсяницы луговой и около 20 % семян мятлика лугового. Включение в состав смеси райграсов однолетнего и пастбищного, а также фестулолиума позволит злаковым травам быстро сформировать мощный листовой полог, подавляя прорастание семян и нормальное развитие проростков борщевика Сосновского. В последующие периоды функционирования травостоя овсяница луговая и красная, а также мятлик луговой, обладающие высокой устойчивостью к частому кошению газона и интенсивным кущением, не позволят борщевика Сосновского внедриться в созданный фитоценоз.

Влияние на представителей из семейства Бобовые либо обладает сортоспецифичностью (зернобобовые), либо оказывает ингибирующее влияние (бобовые травы). Виды из семейства Злаковые в основном характеризуются нейтральной реакцией на выделяемые из семян борщевика Сосновского биологически активные вещества.

Изучено влияние широкого диапазона концентраций (10; 1; 0,1; 0,01 и 0,001 %) водных экстрактов модельных инвазионных видов растений на энергию прорастания и рост проростков тест-культур. Установлено, что воздействие концентраций в пределах от 0,01 до 0,001 % стимулирует рост и развитие тест-культур, а воздействие концентраций в диапазоне от 1 до 10 % оказывает в основном ингибирующее влияние (рис. 2, 3).

Как видно из рис. 3, наиболее сильное ингибирующее влияние на длину проростков кресс-салата оказывают водные экстракты из листьев борщевика Сосновского, что наряду с другими при-

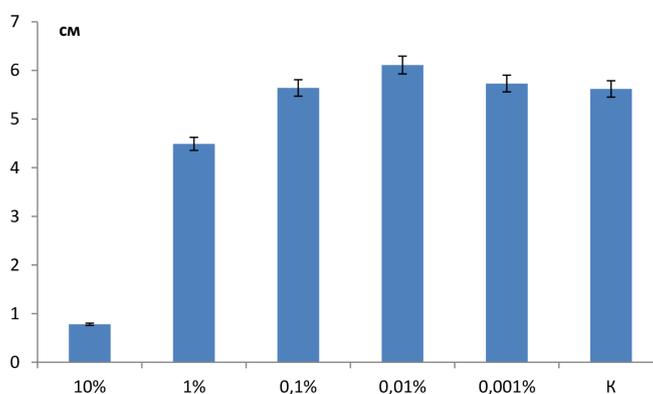


Рис. 2. Влияние водного экстракта из сухой биомассы листьев борщевика Сосновского на длину проростков кресс-салата (10; 1; 0,1; 0,01; 0,001 % – концентрации водных экстрактов)

Fig. 2. The effect of water extracts from the dry biomass of the leaves of *H. sosnowskyi*'s on the length of cress seedlings (10; 1; 0,1; 0,01; 0,001 % – concentrations of water extracts)

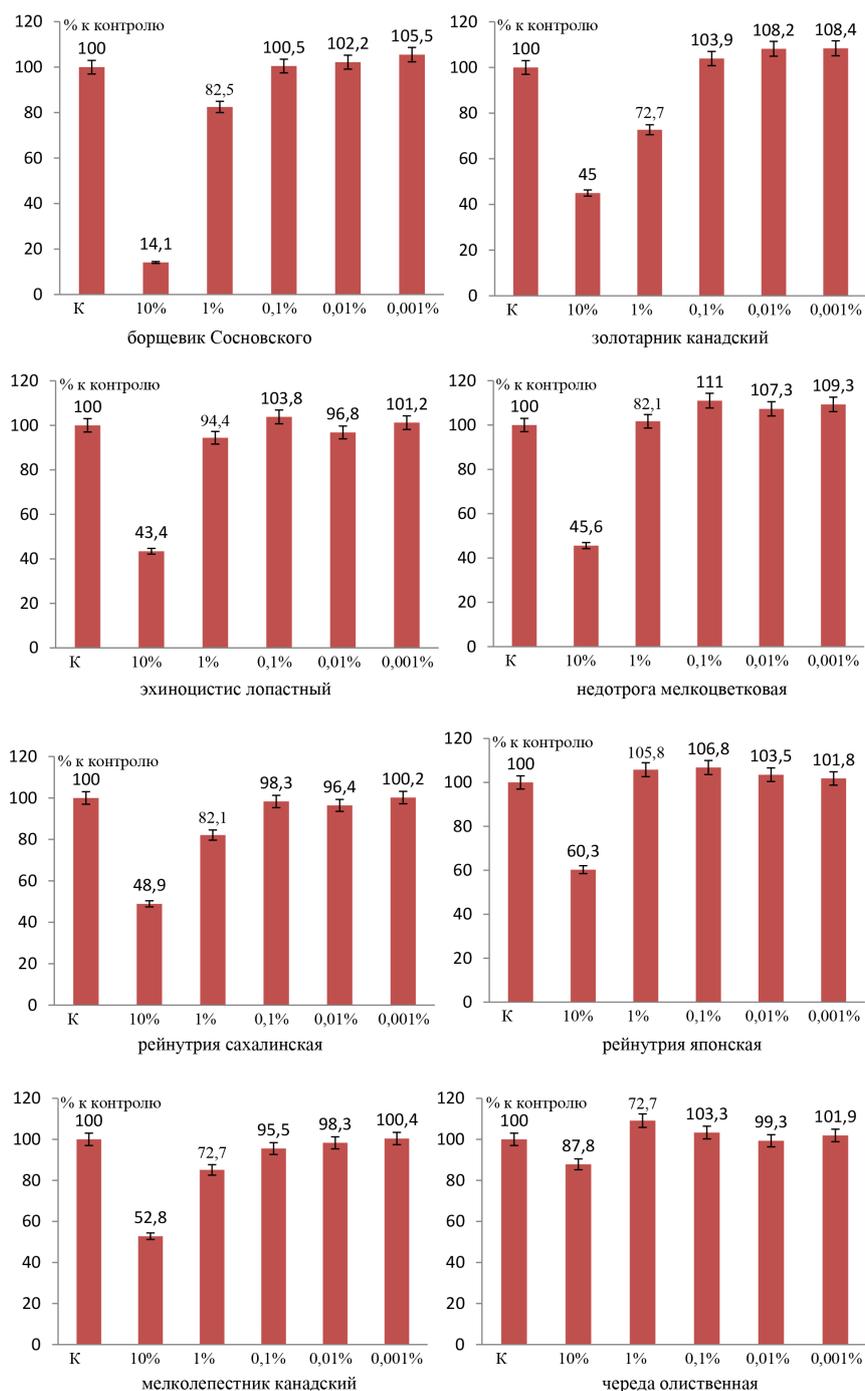


Рис. 3. Влияние водных экстрактов из сухой биомассы листьев различных видов инвазивных растений на длину проростков кресс-салата

Fig. 3. The effect of water extracts from dry leaf biomass of different invasive plant species on the length of cress seedlings

чинами, обуславливающими высокую инвазивную активность этого таксона, позволяет последнему выступать в роли вида-трансформера. Среди других изученных видов выделяют золотарник канадский и недотрогу мелкоцветковую, водные экстракты которых оказывают значительное стимулирующее влияние на длину проростков кресс-салата при низких концентрациях растворов.

В целом результаты изучения видов растений, обладающих высокой инвазивной активностью, показали, что оценка их аллелопатической активности является достаточно перспективным направлением в разработке новых подходов по практическому использованию этих растений в различных областях.

Заклучение. Установлено, что наибольшей биологической активностью обладают экстракты, полученные из сухой биомассы листовых пластинок растений, заготовленных в период бутонизации – цветения растений. Изменяя концентрации от низких (0,5–0,1 % и ниже) до высоких (1–5 % и выше), можно в зависимости от поставленной цели использовать экстракты, выделяемые из различных органов растений, как для стимулирования, так и для ингибирования процессов роста и развития культурных и дикорастущих растений. Выявлена высокая избирательность действия выделяемых семенами борщевика Сосновского веществ и полученных экстрактов по отношению к представителям семейства Крестоцветные, что указывает на перспективность их использования с целью создания экологически чистых препаратов по целенаправленному управлению биопродуктивностью. Несомненный интерес также представляет изучение инвазионных видов растений в качестве источников биологически активных соединений, особенно для косметической и фармацевтической промышленности.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Б16-046 «Исследование аллелопатического потенциала адвентивных видов с высокой инвазионной активностью в Беларуси в связи с ограничением их распространения и возможностью использования в хозяйственно-полезных целях».

Acknowledgements. The work was supported by the project of the Belarusian Republican Foundation for Basic Research no. B16-046 “Investigation of the allelopathic potential of adventitious species with high invasive activity in Belarus due to the limitation of their spread and the possibility of using them for economic purposes”.

Список использованных источников

1. Ламан, Н. А. Способы ограничения распространения и искоренения гигантских борщевиков: современное состояние проблемы / Н. А. Ламан, В. Н. Прохоров // Ботаника: (исследования) : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Отд-ние биол. наук [и др.] ; ред. : Н. А. Ламан [и др.]. – Минск, 2011. – Вып. 40. – С. 469–489.
2. The problem of invasive *Heracleum* species in Belarus / M. Mishyna [et al.] // Weed science society of Japan : materials of the scientific and practical conference (Japan, April 13–14). – Kyoto, 2013. – P. 102.
3. Lorenzo, P. Role of allelopathy during invasion process by alien invasive plants in terrestrial ecosystems / P. Lorenzo, M. I. Hussain, L. González // Allelopathy: Current trends and future applications / ed. : Z. A. Cheema, M. Farooq, A. Wahid. – Berlin, Heidelberg, 2013. – P. 3–21.
4. Pisula, N. L. Allelopathic effects of goldenrod species on turnover in successional communities / N. L. Pisula, S. J. Meiners // The Amer. Midland Naturalist. – 2010. – Vol. 163, N 1. – P. 161–172.
5. Виноградова, Ю. К. Инвазионная биология: предмет, гипотезы, задачи, методы / Ю. К. Виноградова // Проблемы экспериментальной ботаники : сб. ст. / Ю. К. Виноградова, В. Н. Решетников ; отв. ред. А. В. Пугачевский. – Минск, 2015. – С. 5–79. – (Купревичские чтения-10).
6. Orr, S. P. Invasive plants can inhibit native tree seedlings: testing potential allelopathic mechanisms / S. R. Orr, J. A. Rudgers, K. Clay // J. of Plant Ecology. – 2005. – Vol. 181, N 2. – P. 153–165.
7. Enhanced allelopathy and competitive ability of invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range / Y. Yuan [et al.] // Plant Ecology. – 2013. – Vol. 6, N 3. – P. 253–263.
8. Гродзинский, А. М. Аллелопатия в жизни растений и их сообществ : основы хим. взаимодействия растений / А. М. Гродзинский. – Киев : Наукова думка, 1965. – 200 с.
9. Чернобрюнко, С. И. Черная роль растительных выделений и межвидовое взаимоотношение в смешанных посевах / С. И. Чернобрюнко. – М. : Совет. наука, 1956. – 194 с.
10. Гродзинский, А. М. О новой концепции аллелопатии / А. М. Гродзинский // Химическое взаимодействие растений : сб. науч. тр. / редкол. : А. М. Гродзинский (отв. ред.) [и др.]. – Киев, 1981. – С. 3–18.
11. Бухаров, А. Ф. Аллелопатическая активность у семян овощных сельдерейных культур / А. Ф. Бухаров, Д. Н. Балеев // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 1. – С. 86–90.
12. Modern genomic approaches to improving allelopathic capability in wheat (*Triticum aestivum* L.) / H. Wu [et al.] // Allelopathy J. – 2007. – Vol. 19, N 1. – P. 97–107.
13. Yang, R. Y. Allelopathic effects of invasive *Solidago canadensis* L. on germination and growth of native chinese plant species / R. Y. Yang, L. X. Mei, X. Chen // Allelopathy J. – 2007. – Vol. 19, N 1. – P. 241–247.
14. Мишина, М. Ю. Влияние совместного проращивания семян борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) на всхожесть и развитие проростков различных культур / М. Ю. Мишина, В. Н. Прохоров // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: материалы VII Междунар. науч. конф., г. Минск, 26–28 окт. 2011 г. / ред. : Н. А. Ламан [и др.]. – Минск, 2011. – С. 146.
15. The study of plant growth activity of seeds of invasive species *Heracleum sosnowskyi* Manden *Umbeliferae* / M. Y. Mishyna [et al.] // The East Asian flora and its role in the formation of the world's vegetation : abstracts of the symposium (Vladivostok, Sept. 23–27, 2012). – Vladivostok, 2012. – P. 48.
16. Исследование аллелопатической активности борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) в связи с его высоким конкурентным потенциалом / В. Н. Прохоров [и др.] // Биологически активные вещества растений – изучение и использование : материалы междунар. науч. конф., приуроч. к 55-летию Отдела биохимии и биотехнологий

растений Центр. Ботан. сада НАН Беларуси и 75-летию акад. НАН Беларуси В. Н. Решетникова (г. Минск, 29–31 мая 2013 г.) / ред. : В. Н. Решетников [и др.]. – Минск, 2013. – С. 180–181.

17. Лебедев, В. М. Вопросы аллелопатии в лесных фитоценозах – состояние и перспективы / В. М. Лебедев, Е. В. Лебедев // *Агрохимия*. – 2015. – № 4. – С. 85–91.

18. Чегодаева, Н. Д. Аллелопатическое влияние борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) на культурные растения / Н. Д. Чегодаева, Т. А. Маскаева, М. В. Лабутина // *Фундам. исслед.* – 2015. – № 2, ч. 26. – С. 5845–5849.

19. Экспресс-метод определения жизнеспособности семян борщевика Сосновского (*Heracleum Sosnowskyi* Manden) / Н. А. Ламан [и др.] // *Клеточная биология и биотехнология растений : междунар. науч.-практ. конф.* (г. Минск, 13–15 февр. 2013 г.) / ред. : В. В. Демидчик [и др.]. – Минск, 2013. – С. 171.

20. Мишина, М. Ю. Влияние набухающих семян борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) на всхожесть и рост проростков культурных растений / М. Ю. Мишина, Н. А. Ламан, В. Н. Прохоров // *Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры : материалы Междунар. конф., посвящ. 80-летию Центр. Ботан. сада Нац. акад. наук Беларуси (19–22 июня 2012 г., г. Минск) : в 2 ч. / редкол. : В. В. Титок (отв. ред.) [и др.].* – Минск, 2012. – Ч. 2. – С. 136–138.

21. Кондратьев, М. Н. Физиолого-экологические механизмы инвазивного проникновения борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) в неиспользуемые агроэкосистемы / М. Н. Кондратьев, С. Н. Бударин, Ю. С. Ларикова // *Изв. Тимирязев. с.-х. акад.* – 2015. – Вып. 2. – С. 36–49.

22. Pisula, N. L. Relative allelopathic potential of invasive plant species in a young disturbed woodland / N. L. Pisula, J. M. Scott // *J. of the Torrey Botanical Society*. – 2010. – Vol. 137, N 1. – P. 81–87.

23. Shaukat, S. S. Allelopathic responses of *Coniza canadensis* (L.) cronquist: a cosmopolitan weed / S. S. Shaukat, N. Munir, I. A. Siddiqui // *Asian J. of Plant Sciences*. – 2003. – Vol. 2, N 14. – P. 1034–1039.

24. Latif, S. Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence / S. Latif, G. Chiapusio, L. A. Weston // *Advances in Bot. Research*. – 2017. – Vol. 82. – P. 19–54.

25. Allelopathic suppression by *Conyza canadensis* depends on the interaction between latitude and the degree of the plant's invasion / C. Wang [et al.] // *Acta Botanica Brasiliica*. – 2017. – Vol. 31, N 2. – P. 212–219.

26. Evaluating the potential of allelopathic plant water extracts in suppressing horse purslane growth / A. Mahmood [et al.] // *Intern. J. of Agriculture and Biology*. – 2010. – Vol. 12, N 4. – P. 581–585.

27. Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth / R. Bogatek [et al.] // *Biologia Plantarum*. – 2006. – Vol. 50, N 1. – P. 156–158.

28. Аллелопатический эффект *Heracleum sosnowskyi* Manden, сорных и лекарственных растений на культурные виды / М. Н. Кондратьев [и др.] // *Годичное собрание Общества физиологов растений России «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий» : материалы междунар. науч. конф. и шк. молодых ученых : в 2 ч. / отв. ред. Е. С. Роньжина.* – Калининград, 2014. – Ч. 2. – С. 234–236.

References

1. Laman N. A., Prokhorov V. N. Methods for limiting the spread and eradication of giant cow-eaters: the current state of the problem. *Botanika: (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov* [Botany: (research): a collection of scientific papers]. Minsk, 2008, Iss. 35, pp. 100–105 (in Russian).

2. Mishyna M., Laman N., Prokhorov V., Fujii Y. The problem of invasive *Heracleum* species in Belarus : materials of the scientific and practical conference. Kyoto, Japan, April 13–14, 2013, p. 102.

3. Lorenzo P., Hussain M. I., Gonzalez L. Role of allelopathy during invasion process by alien invasive plants in terrestrial ecosystems. *Allelopathy: Current trends and future applications*. Berlin, Heidelberg, 2013, pp. 3–21.

4. Pisula N., Meiners S. J. Allelopathic effects of goldenrod species on turnover in successional communities. *The American Midland Naturalist*, 2010, vol. 163, no. 1, pp. 161–172. DOI: 10.1674/0003-0031-163.1.161

5. Vinogradova Yu. K. Invasive biology: subject, hypotheses, problems, methods. *Problemy eksperimental'noi botaniki: sbornik statei* [Problems of experimental botany: a collection of articles]. Minsk, 2015, pp. 5–79 (in Russian).

6. Orr S. P., Rudgers J. A., Clay K. Invasive plants can inhibit native tree seedlings: testing potential allelopathic mechanisms. *Plant Ecology*, 2005, vol. 181, no. 2, pp. 153–165. DOI: 10.1007/s11258-005-5698-6

7. Yuan Y., Wang B., Zhang S., Tang J., Tu C., Hu S., Yong J. W. Y., Chen X. Enhanced allelopathy and competitive ability of invasive plant *Solidago canadensis* in its introduced range. *Journal of Plant Ecology*, 2013, vol. 6, no. 3, pp. 253–263. DOI: 10.1093/jpe/rts033

8. Grodzinskii A. M. *Allelopathy in the life of plants and their communities: Fundamentals of chemical interaction of plants*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1965. 200 p. (in Russian).

9. Chernobrivenko S. I. *The biological role of plant extracts and the inter-species relationship in mixed crops*. Moscow, Sovetskaya nauka Publ., 1956. 194 p. (in Russian).

10. Grodzinskii A. M. On the new concept of allelopathy. *Khimicheskoe vzaimodeistvie rastenii: sbornik nauchnykh trudov* [Chemical interaction of plants: a collection of scientific papers]. Kiev, 1981, pp. 3–18 (in Russian).

11. Bukharov A. F., Baleev D. N. Allelopathic activity in the seeds of vegetable celery. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 2014, no. 1, pp. 86–90 (in Russian).

12. Wu H., Pratley J., Lemerle D., An M., Liu D. L. Modern genomic approaches to improving allelopathic capability in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Allelopathy Journal*, 2007, vol. 19, no. 1, pp. 97–107.

13. Yang R. Y., Mei L. X., Chen X. X. Allelopathic effects of invasive *Solidago canadensis* L. on germination and growth of native Chinese plant species. *Allelopathy Journal*, 2007, vol. 19, no. 1, pp. 241–247.

14. Mishyna M. Y., Prokhorov V. N. Influence of the joint germination of the seeds of the cowwort Sosnovsky (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) on the germination and development of seedlings of different cultures. *Regulyatsiya rosta, razvitiya i produktivnosti rastenii: materialy VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Minsk, 26–28 oktyabrya 2011)* [Regulation of growth, development and productivity of plants [Text]: materials of the VII International scientific conference] (Minsk, October 26–28, 2011). Minsk, 2011, p. 146 (in Russian).

15. Mishyna M. Y., Laman N. A., Prokhorov V. N., Fujii Y. The study of plant growth activity of seeds of invasive species *Heracleum sosnowskyi* Manden Umbeliferae. *The East Asian flora and its role in the formation of the world's vegetation: abstracts of the symposium (Vladivostok, September 23–27, 2012)*. Vladivostok, 2012, p. 48.

16. Prokhorov V. N., Mishyna M. Y., Timofeeva I. V., Rosolenko S. I., Laman N. A. The study of allelopathic activity of the Sausnovsky cowworm (*Heracleum sosnowskyi* Manden) in connection with its high competitive potential. *Biologicheskii aktivnye veshchestva rastenii – izucheniye i ispol'zovanie: materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, priurochennoi k 55-letiyu Otdela biokhimi i biotekhnologii rastenii Tsentral'nogo botanicheskogo sada NAN Belarusi i 75-letiyu akademika NAN Belarusi V. N. Reshetnikova (Minsk, 29–31 maya 2013)* [Biologically active substances of plants – study and use: materials of the intern. sci. dedicated to the 55th anniversary of the Biochemistry and Biotechnology Department of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus and the 75th anniversary of Academician of the National Academy of Sciences of Belarus V. N. Reshetnikov (Minsk, May 29–31, 2013)]. Minsk, 2013, pp. 180–181 (in Russian).

17. Lebedev V. M., Lebedev E. V. Questions of allelopathy in forest phytocenoses – state and prospects. *Agrokhimiya [Agrochemistry]*, 2015, no. 4, pp. 85–91 (in Russian).

18. Chegodaeva N. D., Maskaeva T. A., Labutina M. V. Allelopathic influence of Sosnovsky's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden) on cultivated plants. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research], 2015, no. 2, pt 26, pp. 5845–5849 (in Russian).

19. Laman N. A., Prokhorov V. N., Rosolenko S. I., Timofeeva I. V. Express method for determining the viability of seeds of the cow-bean plant Sosnovsky (*Heracleum sosnowskyi* Manden). *Kletochnaya biologiya i biotekhnologiya rastenii: mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya (Minsk, 13–15 fevralya 2013 g.)* [Plant cell biology and biotechnology: International scientific and practical conference (Minsk, 13–15 February, 2013)]. Minsk, 2013, p. 171 (in Russian).

20. Mishina M. Iu., Laman N. A., Prokhorov V. N. Influence of swollen seeds of cow-bearded Sosnovsky (*Heracleum sosnowskyi* Manden) on the germination and growth of seedlings of cultivated plants. *Introduktsiya, sokhraneniye i ispol'zovanie biologicheskogo raznoobraziya mirovoi flory: materialy Mezhdunarodnoi konferentsii, posvyashchenoi 80-letiyu Tsentral'nogo botanicheskogo sada Natsional'noi akademii nauk Belarusi (19–22 iyunya 2012 g., Minsk). Chast' 2* [Introduction, preservation and use of the biological diversity of the world flora: materials of the International conference dedicated to the 80th anniversary of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (June 19–22, 2012, Minsk). Part 2]. Minsk, 2012, pp. 136–138 (in Russian).

21. Kondrat'ev M. N., Budarin S. N., Larikova Iu. S. Physiological and ecological mechanisms of invasive penetration of the Sosnovsky cow-grass (*Heracleum sosnowskyi* Manden) into unused agroecosystems. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii* [News of the Timiryazev Agricultural Academy], 2015, Iss. 2, pp. 36–49 (in Russian).

22. Pisula N. L., Scott J. M. Relative allelopathic potential of invasive plant species in a young disturbed woodland. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 2010, vol. 137, no. 1, pp. 81–87. DOI: 10.3159/09-RA-040.1

23. Shaukat S. S., Munir N., Siddiqui I. A. Allelopathic responses of *Coniza canadensis* (L.) Cronquist: A cosmopolitan weed. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2003, vol. 2, no. 14, pp. 1034–1039. DOI: 10.3923/ajps.2003.1034.1039

24. Latif S., Chiapusio G., Weston L. A. Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. *Advances in Botanical Research*, 2017, vol. 82, pp. 19–54. DOI: 10.1016/bs.abr.2016.12.001

25. Wang C., Jiang K., Zhou J., Liu J. Allelopathic suppression by *Conyza canadensis* depends on the interaction between latitude and the degree of the plant's invasion. *Acta Botanica Brasiliica*, 2017, vol. 31, no. 2, pp. 212–219. DOI: 10.1590/0102-33062017abb0045

26. Mahmood A., Cheema Z. A., Khaliq A., Hassan A. U. Evaluating the potential of allelopathic plant water extracts in suppressing horse purslane growth. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2010, vol. 12, no. 4, pp. 581–585.

27. Bogatek R., Griazdowska A., Zakrewska W., Oracz K., Gawronski S. W. Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth. *Biologia Plantarum*, 2006, vol. 50, no. 1, pp. 156–158. DOI: 10.1007/s10535-005-0094-6

28. Kondrat'ev M. N., Larikova Yu. S., Budarin S. N., Klechkovskaya Yu. B., Pashtanova E. S. Allelopathic effect of *Heracleum sosnowskyi* Manden, weed and medicinal plants on cultural species. *Godichnoe sobranie Obshchestva fiziologov rastenii Rossii "Fiziologiya rastenii – teoreticheskaya osnova innovatsionnykh agro- i fitobiotekhnologii": materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii i shkoly molodykh uchenykh. Chast' 2* [Annual meeting of Russian society of plant physiologists "Plant physiology as a theoretical basis for innovative agriculture and phytobiotechnologies". Proceedings of the International scientific conference and School for young scientists. Part 2]. Kaliningrad, 2014, pp. 234–236 (in Russian).

Информация об авторе

Валерий Николаевич Прохоров – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nan.botany@yandex.by.

Information about the author

Valery N. Prokhorov – D. Sc. (Biol.), Chief researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nan.botany@yandex.by.

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.9:632.51(476)

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-171-175

Поступила в редакцию 11.09.2017

Received 11.09.2017

В. В. Сарнацкий

*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ПОНЯТИЕ «ИНВАЗИОННЫЙ ВИД» И СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ИНТРОДУКЦИИ, РАССЕЛЕНИЯ И МИГРАЦИИ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Современные представления о сохранении видового разнообразия растительного мира, характерного для того или иного региона, особенно в связи интенсификацией пользования растительными ресурсами и техногенным загрязнением среды произрастания, повышением темпов антропохорной диссеминации, в большей мере относятся к области рационального природопользования, охраны редких и исчезающих видов, чем к борьбе с распространением инвазивных растений и непреднамеренным (случайным) расселением интродуцентов, которую также следует ориентировать на хозяйственные цели с учетом баланса допустимых объемов пользования растительными ресурсами и экологии. Использование, например, в сельском и (или) лесном хозяйстве, практике дорожного и зеленого строительства, озеленении населенных пунктов некоторых инвазивных видов, в том числе интродуцированных, не менее (а иногда и более) эффективно, чем использование аборигенных растений. В зависимости от целей и методов исследований, степени изученности и размеров обследуемой территории (ареала естественного распространения того или иного представителя растительного мира), а также субъективного понимания процессов расселения, миграции видов и формирования растительного покрова существуют разные подходы к терминологической основе понятий об адвентивных (инвазивных и интродуцированных) растениях.

Ключевые слова: растительность, самосев, интродуценты, инвазивные виды

Для цитирования: Сарнацкий, В. В. Понятие «инвазивный вид» и современные аспекты интродукции, расселения и миграции растений в условиях Беларуси / В. В. Сарнацкий // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 171–175. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-171-175

V. V. Sarnatsky

*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

THE CONCEPT OF “INVASION SPECIES” AND MODERN ASPECTS OF INTRODUCTION, PLANNING AND MIGRATION OF PLANTS IN CONDITIONS OF BELARUS

Abstract. Modern ideas about the preservation of the species diversity of the plant world characteristic of a particular region, especially in connection with the intensification of the use of plant resources and man-caused pollution of the growing environment, the increasing rate of anthropic dissemination, are more relevant to the field of rational nature management, protection of rare and endangered species than to the control of the spread of invasive plants and the unintentional (accidental) resettlement of introducers, which also follows landmarks be on economic objectives, taking into account the balance of the permissible volume of use plant resources and the ecology. The use of, for example, in agriculture and (or) forestry, the practice of road and green construction, the gardening of settlements of some invasive species, including introduced ones, is no less (and sometimes even more) effective than the use of native plants. Depending on the aims and methods of research, the degree of study and the size of the surveyed area (the range of natural distribution of a representative of the plant world), as well as the subjective understanding of the processes of settlement, migration of species and the formation of vegetation cover, there are different approaches to the terminological basis of concepts of adventive (invasive and introduced) plants.

Key words: vegetation, natural seeding, introducers, invasive species

For citation: Sarnatsky V. V. The concept of “invasive species” and modern aspects of introduction, planning and migration of plants in conditions of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 171–175 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-171-175

Введение. Развитие теории эволюции и филогении растительного мира, образования или деградации (вырождения) вида, происходящих в условиях интенсификации антропогенного воздействия на растительные сообщества и их среду функционирования, заключается в дальнейшем совершенствовании представлений о популяционной биологии, расселении и миграции растений, инвазивных и (или) интродуцированных видах, что в совокупности составляет основу

для решения насущных прикладных проблем ведения лесного, сельского хозяйства, рационального природопользования, охраны природы, сохранения биологического разнообразия растительного и животного мира.

Цель исследования – анализ и оценка особенностей расселения, миграции растений в условиях интенсификации природопользования и существующих тенденций в разработке организационно-технических, практических мероприятий в связи с совершенствованием хозяйственных методов использования полезных свойств так называемых инвазионных и (или) интродуцированных растений.

Объекты и методы исследования. Объекты исследования – хвойные, лиственные леса различного возраста. Изучены полнота, продуктивность и породный состав древостоя, происхождение (естественное и (или) искусственное) видов, а также луговая, болотная растительность, функционирующая в разных режимах использования и охраны, самосев древесной, кустарниковой, травяной растительности на землях, выведенных из сельскохозяйственного и иного пользования, интродуценты и отдельные инвазионные виды. Использованы общепринятые в ботанике, лесоведении, фитоценологии методы исследований.

В настоящей работе расселение видов понимается как расширение их области распространения и натурализация на новых местах в пределах функционирования аборигенной популяции растений и (или) естественного ареала того или иного вида растения.

Миграция – это перемещение (переселение) вида за пределы его ареала (определение термина миграции растений до настоящего времени в научной литературе остается дискуссионным) [1–4].

Инвазия – внедрение чужеродных растений в ход первичных или вторичных сукцессий, приводящее к их изменению и (или) блокировке, деградации процессов самовосстановления растительного сообщества вплоть до полного исчезновения составляющих его природных видов [1, 5].

Интродукция растений – преднамеренное или случайное переселение особей какого-либо вида растений за пределы естественного ареала в новые для них места произрастания, а также введение отдельных культурных сортов растений в места, где они раньше не произрастали, или введение в культуру дикорастущих растений, в том числе взятых из-за предела их ареала [1, 5].

Результаты и их обсуждение. Учитывая существующие терминологические разногласия и не претендуя (в рамках этой публикации) на полноту изложения исторических аспектов становления, развития теоретического понятия, объема и сути термина «инвазионный вид», широко используемого в многочисленной зарубежной и русскоязычной научной, научно-популярной литературе, следует отметить, что целесообразность выделения заносного или адвентивного элемента растительности возникла в результате существенного антропогенного влияния на растительность, приводящего, как правило, к изменению облика растительного покрова, видового состава и продуктивности.

Основные этапы становления этого термина неразрывно связаны с постепенным развитием понятий о растениях, которые в разное время в русскоязычной и зарубежной литературе назывались «колонисты», «пришлые», «синантропные», «чужеземцы», «трансформеры», «агриофиты», «эпекофиты» и др. Определение закономерностей расселения растений, а также процессов их миграции, адаптации в современных условиях позволяет выявить новые закономерности формирования ареалов видов, их дизъюнктивности, популяционной структуры и сукцессий в сообществах, филоценогенеза в целом.

Известно, что инвазионные виды являются компонентами заносного или адвентивного элемента растительности конкретной территориальной единицы, которая, в свою очередь, может быть разделена на аборигенную (автохтонную) и адвентивную (аллохтонную) растительность. Последняя отличается иногда агрессивностью или способностью с разной степенью успешности внедряться в различные фитоценозы, в том числе в ненарушенные естественные и агроценозы, при этом под аборигенным компонентом понимается часть растительности, заносное происхождение которой на этой территории в настоящий момент не установлено.

Однако далеко не все инвазионные виды, активно расселяющиеся, отличаются агрессивностью и наносят экологический и (или) экономический ущерб. Речь идет о так называемых мягких инвазионных видах, нейтральных и полезных, ущерб от внедрения которых в аборигенные

сообщества незначительный и которые зачастую могут принести пользу человеку в различных аспектах его жизнедеятельности. Многие природные и культурные растения, случайно или не случайно распространившиеся на новые территории, могут входить в состав аборигенных, прежде всего нарушенных, сообществ и способны в этих условиях к размножению, расселению и успешному функционированию.

Примером полезности заносных видов могут быть так называемые доноры азота (представители семейства бобовых растений, клубеньковые бактерии которых способны переводить атмосферный азот в усвояемые для растений формы) – растения, препятствующие распространению пожаров, аккумуляторы вредных веществ и опада, закрепители песчаных почв и дюн.

Следует отметить, что попытки решения упомянутых выше теоретических и практических проблем известны из литературных источников уже не одно столетие. В зависимости от целей и методов исследований, изученности и размеров территориальных объектов, а также субъективного понимания этих и других вопросов разные исследователи по-разному используют терминологическую основу упомянутых нами понятий. Целесообразность дифференциации адвентивных растений, с одной стороны, вытекает из факта заноса на ту или иную территорию отсутствующих на ней ранее видов, с другой, определяется степенью участия человека в этом процессе и последствиями этого участия.

В так называемой инвазионной экологии основными критериями для дифференциации различных групп этих растений принято считать: 1) способность растений к размножению и распространению на территории, где они раньше не произрастали (биология вида); 2) эколого-фитоценологическую роль растений в сообществах.

Растения, случайно или не случайно распространившиеся за пределами культуры, не всегда входят в состав природных или нарушенных сообществ. Относительным критерием оценки скорости успешного распространения семенных растений на обширных территориях считается расстояние более 100 м за период времени, не превышающей 50 лет, и более 6 м за 3 года для видов, распространяющихся вегетативно.

Успешность расселения определяется особенностями онтогенетического развития растений, экологическими условиями, качеством прохождения этапов генеративного развития, способностью к вегетативному размножению и др. Так, например, топинамбур, или подсолнечник клубненосный (*Helianthus tuberosus*), на родине (Северная Америка) – компонент природной растительности, распространяющийся семенами и вегетативно. В условиях Беларуси семена этого растения не вызревают, а его расселение осуществляется клубнями антропо- (или) зоохорным способом, при этом скорость расселения определяется в основном деятельностью человека.

Светолюбивые лесообразующие породы (береза, осина, ольха, ивовые) характеризуются более ранним началом смены поколения и более высокой скоростью расселения, чем теневыносливые (ель, дуб). Однако последние более конкурентоспособны, чем пионерные лесообразователи. В условиях Светлоборского и Волмянского лесничеств (Пуховичский и Червенский лесхозы, Минское ГПЛХО) земли, примыкавшие к участкам, занятым листовым древостоем (береза повислая), сосняками, и использованные ранее в основном для выращивания сеяных трав и выпаса скота, после вывода их из сельскохозяйственного назначения в первые 3–4 года подверглись интенсивной инвазии золотарника канадского (*Solidago canadensis*) и в последующие 10–15 лет покрылись зарослями березы на расстоянии 1,5–2 км от стены березового леса. Золотарник канадский сохранился фрагментарно лишь по отдельным опушкам зарослей березы повислой и сосны обыкновенной. При этом в полосе шириной в 150–200 м, примыкающей к березовому лесу, за это время постепенно возникла лесная среда (микроклимат) и сформировался сомкнутый березово-сосновый древостой, поскольку самосев березы, сосны за эти годы выявлен на расстоянии до 200–250 м от ближайших источников диссеминации и характер его произрастания – диффузно-рассеянный и (или) куртинно-групповой. Отдельные растения сосны, березы произрастают и на большем расстоянии.

Другая часть этих земель после рекультивации (раскорчевки, вспашки и посева многолетних трав, кормовых смесей) была отведена под сельскохозяйственные угодья, а золотарник канадский уже после первого приема культивирования и вспашки, посева семян и образования фитоценоза

культурного происхождения в течение первых 2–3 лет практически полностью выпал из состава травостоя и частично произрастал лишь на окраинах опушек лесных насаждений, примыкающих к возделываемым сельскохозяйственным полям, в том числе и используемым для выращивания многолетних травяных растений.

Эффективность диссеминации и расселения семенных растений обусловлена прежде всего показателями пространственного распределения всходов и взрослого потомства вокруг материнских особей. Всходы древесных гемианемохоров (граб, ильм, клен, липа, ясень) выявлены вокруг материнских особей в радиусе 50 м и единично – на расстоянии до 100–150 м и более. Занимаемая ими площадь имеет овальное очертание и вытянута по направлению господствующих ветров в период осыпания семян, а дальность разлета последних во многом определяется скоростью ветра и высотой материнского дерева. В большинстве случаев семена разлетаются на расстояние, равное 2–5-кратной высоте древесного растения.

Необходимая густота самосева, образование популяции во многом достигаются одними способами диссеминации, а успешность расселения вида за пределы ареала (миграции) – другими. «Мигрантам» сложно закрепиться в аборигенном растительном сообществе в силу влияния комплекса факторов и конкуренции. Преодоление несоответствия экологических условий биологическим свойствам вида зачастую требует генетической перестройки последнего. Структуру вида составляют викарирующие популяции, приспособленные к местным условиям и характеризующиеся фено- и генотипическими различиями, которые в совокупности не выходят за пределы внутривидовых. Эти различия формируются в условиях длительной адаптации вида к условиям произрастания.

Сопряженные миграции не следует рассматривать как миграцию формаций (которой не существует в природе), поскольку это является условным восприятием особенностей формирования сообществ в различные геологические периоды, весьма длительные по времени. Способность вида к миграции и ее амплитуда обусловлены экологическим диапазоном адаптации и конкурентоспособностью вида, а также биотической средой.

С учетом упомянутого выше выделено два типа миграции вида: гомозкологический, для которого характерны практически однородные условия произрастания; дивергентный, когда после внедрения в иные условия вид подвергается генетическим изменениям, последствия которых проявляются в викариантных видах [1, 3, 4].

Последнее обстоятельство относится в основном к межзональным граничным территориям, горным массивам, которые составляют важную компоненту рефугиально-автохтонной концепции эволюции растительного покрова. Миграция семенных растений происходит волнообразно, со сменой поколений, во многих случаях – сопряженно, путем медленной инвазии и эцезиса авангардных особей в другие сообщества. В свою очередь типы миграций дифференцированы на четыре варианта – ленточная, радиальная, секториальная, фронтальная. Дивергентные миграции в большинстве случаев сопровождаются видообразованием и наблюдаются на границах растительных зон и поясов [3, 4].

Проблему инвазионных видов не следует рассматривать с позиции лишь негативного явления, поскольку в этом случае присутствуют элементы эволюции тех или иных видов и растительного покрова в целом. Основной вопрос заключается в оценке направленности этого процесса – в сторону образования вида или его вырождения, что по своей сути вполне естественно. Прагматичное восприятие проблемы инвазионных видов как негативного явления объясняется чаще всего отсутствием технологии их хозяйственного использования и эффективных механизмов регулирования расселения, миграции, в том числе и непреднамеренного (случайного) расселения интродуцентов.

В результате многолетних наблюдений установлено, что использование, например, в сельском и (или) лесном хозяйстве, практике дорожного и зеленого строительства, озеленении населенных пунктов некоторых инвазионных, в том числе интродуцированных, видов в плане их устойчивости к загрязнению среды произрастания, воздействию эпизоотий хвое- и листогрызущих насекомых, короедов, а также к заболеваниям, вызываемым различными грибами (эпифитии) и другими организмами в условиях возрастающей антропогенной нагрузки, оценки кормовых, средообразующих, декоративных, бальнеологических и других свойств не менее (а иногда и более) эффективно, чем использование аборигенных растений.

Заклучение. Расселение и миграция растений являются составными элементами эволюции видов и растительного покрова в целом. Особенности реализации этих процессов в условиях возрастающей интенсификации использования растительных ресурсов определяют направление и расстояние миграций, дизъюнктивность ареалов и реликтовость растений. Интродукция растений – это преднамеренное переселение особей какого-либо вида растений за пределы естественного ареала в новые для них места произрастания, а также введение культурных сортов в места, где они раньше не произрастали, или их введение в культуру дикорастущих растений. В зависимости от целей и методов исследований, степени изученности и размеров исследуемой территории, а также от субъективного понимания этих и других вопросов существуют разные подходы к терминологической основе понятий об адвентивных (инвазионных и интродуцированных) растениях.

Таким образом, современные представления о сохранении разнообразия растительного мира, характерного для того или иного региона, особенно в связи интенсификацией пользования растительными ресурсами и техногенным загрязнением среды произрастания, повышением темпов антропохорной диссеминации в большей мере относятся к области рационального природопользования, охраны редких и исчезающих видов, чем к борьбе с распространением инвазионных растений и непреднамеренным (случайным) расселением интродуцентов, которую также следует ориентировать на хозяйственные цели с учетом баланса допустимых объемов пользования растительными ресурсами и экологии. Возникла насущная потребность в совершенствовании имеющихся и разработке новых технологий использования так называемых адвентивных представителей растительного мира, интродуцентов и растительных ресурсов в целом. Отдельные негативные последствия, выявленные в результате внедрения инвазионных и интродуцированных растений в природные растительные сообщества, также следует эффективно использовать в производственных и других полезных для человека целях, исходя из новейших достижений науки и технологий, экономической целесообразности.

Список использованных источников

1. Удра, И. Ф. Расселение растений и вопросы палео- и биогеографии / И. Ф. Удра. – Киев : Наук. думка, 1988. – 195 с.
2. Сарнацкий, В. В. Некоторые особенности расселения и миграции семенных растений в условиях подзоны хвойно-широколиственных лесов / В. В. Сарнацкий // Ботаника: (исследования) : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Отд-ние биол. наук [и др.] ; науч. ред. : Н. А. Ламан, В. И. Парфенов. – Минск, 2008. – Вып. 35. – С. 100–105.
3. Удра, И. Ф. Характер, типы и основные пути миграции растений / И. Ф. Удра // Ботан. журн. – 1989. – Т. 74, № 10. – С. 1423–1432.
4. Удра, И. Ф. Расселение и миграции древесных растений в умеренном поясе Евразии : науч. докл. ... д-ра биол. наук : 03.00.05 / И. Ф. Удра ; Гл. ботан. сад. – М., 1990. – 38 с.
5. Williamson, M. *Biological Invasions* / M. Williamson. – London ; New York : Chapman & Hill, 1996. – 244 p.

References

1. Udra I. F. *Settlement of plants and questions of paleo- and biogeography*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1988. 200 p. (in Russian).
2. Sarnatsky V. V. Some peculiarities of the settlement and migration of seed plants in the conditions of the subzone of coniferous-broadleaf forests. *Botanika: (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov* [Botany: (research): a collection of scientific papers]. Minsk, 2008, Iss. 35, pp. 100–105 (in Russian).
3. Udra I. F. Character, types and main ways of plant migration. *Botanicheskij zhurnal* [Botanical Journal], 1989, vol. 74, no. 10, pp. 1423–1432 (in Russian).
4. Udra I. F. *Resettlement and migration of woody plants in the temperate zone of Eurasia*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 1990. 38 p. (in Russian).
5. Williamson M. *Biological Invasions*. London, New York, Chapman & Hill, 1996. 244 p.

Информация об авторе

Сарнацкий Владимир Валентинович – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sarnatskyl@tut.by.

Information about the author

Vladimir V. Sarnatsky – D. Sc. (Biol.), Leading researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sarnatskyl@tut.by.

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.322.9

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-176-187

Поступила в редакцию 20.10.2017

Received 20.10.2017

**И. И. Степура¹, С. А. Лабор¹, А. В. Шуриберко¹, В. И. Степура²,
В. Ю. Смирнов³, А. В. Янцевич⁴**

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Республика Беларусь

³Гродненский медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

⁴Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ТИАМИАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСОФЕРРИЛЬНЫХ ФОРМ МИОГЛОБИНА

Аннотация. Окислительные превращения тиамин в присутствии метмиоглобина и пероксида водорода, в результате которых может образовываться ряд продуктов окисления, носят сложный характер. При инкубации тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода возможно расщепление молекулы тиамин по углероду метиленового мостика с образованием аминопиримидинового и тиазолового компонентов в виде отдельных молекул, а также образование тиохрома, тиаминдисульфида, оксодигидротиохрома, тиаминтиазолон.

Окислительная трансформация фосфатов тиамин при инкубации с метмиоглобином и пероксидом водорода приводит к образованию аналогичных продуктов, однако в этом случае тиаминная активность, т. е. расщепление на пиримидиновый компонент и фосфат тиазола, значительно выше. Добавление тирозина или парацетамола ингибирует тиаминную активность, а также образование дисульфида тиамин, но увеличивает выход тиохрома или фосфатов тиохрома.

С помощью спектрально-флуоресцентных методов, а также методов ВЭЖХ и масс-спектропии проведена идентификация продуктов окисления тиамин и фосфорных эфиров тиамин в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином в присутствии пероксида водорода. Обсуждается роль оксоферрильных форм миоглобин, образующихся при окислительном стрессе, в разрушении по тиаминному пути тиаминдифосфата, который является коэнзимом важнейших ферментов энергетического метаболизма.

Ключевые слова: метмиоглобин, оксоферрильные формы миоглобин, тиамин, тиаминдифосфат, тиазоловый и пиримидиновый компоненты тиамин

Для цитирования: Тиаминная активность оксоферрильных форм миоглобин / И. И. Степура [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 176–187. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-176-187

I. I. Stepuro¹, S. A. Labor¹, A. V. Shuryberka¹, V. I. Stsiapura², V. Yu. Smirnov³, A. V. Yantsevich⁴

¹Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

²Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus

³Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

⁴Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

THIAMINASE ACTIVITY OF MYOGLOBIN OXOFERRYL FORMS

Abstract. Thiamine oxidation chemistry in presence of metmyoglobin and hydrogen peroxide is quite complex and different products can be formed.

Incubation of thiamine with metmyoglobin and hydrogen peroxide can result in splitting of thiamine molecule at carbon atom of the methylene bridge and production of aminopyrimidine and thiazole components as separate molecules or in formation of thiochrome, thiamine disulfide, oxodihydrothiochrome, and thiaminethiazolone.

Oxidative transformation of thiamine phosphate esters in presence of metmyoglobin and hydrogen peroxide gives similar products however thiaminase activity, i.e. splitting of the molecules into aminopyrimidine and thiazole phosphate parts, is much higher in this case. Addition of tyrosine or paracetamol to incubation mixture inhibits thiaminase activity and formation of disulfides, but yield of thiochrome or thiochrome phosphates increases.

Identification of products of thiamine (or its phosphate esters) oxidation in the presence of metmyoglobin and hydrogen peroxide was performed using HPLC, mass-spectrometry and spectral-fluorescent methods.

Role of oxoferryl forms of myoglobin in degradation of thiaminediphosphate, cofactor of the important enzymes of carbohydrate metabolism, by thiaminase mechanism is discussed.

Keywords: metmyoglobin, oxoferryl forms of myoglobin, thiamin, thiamin diphosphate, thiazole and pyrimidine components of thiamine

For citation: Stepuro I. I., Labor S. A., Shuryberka A. V., Stsiapura V. I., Smirnov V. Yu., Yantsevich A. V. Thiaminase activity of myoglobin oxoferryl forms. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 176–187 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-176-187

Введение. Тиамин (или витамин В₁) является важнейшим незаменимым фактором питания и с момента своего открытия известен как соединение, предотвращающее развитие болезни Бери-бери [1]. Более поздние исследования показали, что фосфорилированная форма тиаминдифосфат, является коэнзимом таких важнейших ферментов энергетического метаболизма, как пируватдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназа. Тиаминдифосфат также является кофактором транскетолазы, ключевого фермента пентозофосфатного цикла [2–4]. Кроме тиаминдифосфата в организме всегда содержится свободный тиамин и его фосфорные эфиры: тиаминмонофосфат, тиаминтрифосфат, которые выполняют собственные некоферментные функции, играют важную структурную роль и взаимодействуют с клеточными мембранами, увеличивая их стабильность [5]. Как известно, тиамин и трифосфат тиамин ответственны за передачу нервных импульсов, участвуют в регуляции проницаемости Na⁺-каналов в нервной ткани [6–8]. Кроме того, тиамин не только улучшает метаболические процессы в мозгу пациентов с болезнью Альцгеймера [9], а также с синдромом Вернике-Корсакова [5, 10], но и защищает клеточные структуры от повреждения в опытах *in vitro* [11], выступает в качестве антиоксиданта, например, в нервной ткани, при окислительном стрессе [12, 13]. Повреждение нервной ткани сопровождается усилением синтеза оксида азота, протеканием реакций нитрования тирозина с образованием 3-нитротирозина на фоне дефицита тиамин [14, 15].

Тиамин стабилен в кислой среде, но быстро разрушается в щелочной среде в присутствии кислорода, феррицианида, молекулярного йода и других окислителей с образованием тиаминдисульфида, тиохрома и других продуктов окисления. Тиамин также разрушается под действием рентгеновского и γ -излучения, УФ-излучения и ультразвука [16]. Среди продуктов фотолиза тиамин в кислой среде идентифицирован 2-метил-4-амино-5-амино-метилпиримидин [17]. Под действием сульфита тиамин расщепляется по метиленовому мостику с образованием пиримидинового и тиазолового компонентов [18]. Тиамин является эффективным скэвенджером гидроксильных радикалов [19], пероксинитрита [20] и окисляется с образованием тиохрома, оксидигидротиаохрома, тиаминдисульфида [16]. Показано, что тиамин разрушается под действием ряда других антиаминовых факторов ферментативной и неферментативной природы. Ферментативные антиаминовые факторы включают термолабильные тиаминазу I (ЕС 2.5.1.2) и тиаминазу II (ЕС 3.5.99.2). Тиамин I содержится в больших количествах во внутренностях карпа и других пресноводных рыб, а также в моллюсках [21, 22]. Расщепление молекулы тиамин под действием тиаминазы I сопровождается присоединением к метиленовой группе пиримидинового компонента азота или серосодержащих органических оснований [21]. Тиамин II гидролитически расщепляет тиамин на пиримидиновый и тиазоловый компоненты (обнаружена только среди микроорганизмов) [23].

Термостабильные антиаминовые факторы содержатся во многих продуктах растительного и животного происхождения [24–27]. Показано, что тиамин окисляется под действием катехинов, хинонов, флавоноидов, а также активных соединений, содержащихся в кофе или чае [26, 27]. После прекращения потребления чая содержание тиамин в организме быстро нормализуется. Добавление в продукты питания или фармацевтические препараты аскорбиновой кислоты предотвращает разрушение тиамин и способствует сохранению тиаминного статуса организма [27]. Общее количество тиамин во взрослом организме человека составляет примерно 30 мг. Скорость обмена тиамин в тканях организма человека достаточно велика, а время, в течение которого уровень тиамин снижается наполовину, составляет, по данным разных авторов, от 9 до 18 дней [28]. Сам тиамин в бактериальных и животных клетках активно метаболизируется. В моче крыс и человека выделено от 25 до 30 метаболитов тиамин. Тиаминуксусная, тиазолуксусная и пиримидинкарбоновая кислоты являются главными идентифицированными метаболитами тиамин в моче крыс и человека [29]. Важную роль в метаболизме тиамин играет алкогольдегидрогеназа. В опытах *in vitro* показано, что тиамин является хорошим субстратом для данного фермента, а 5- β -оксиэтильная группа тиазолового компонента витамина В₁ окисляется с большей скоростью, нежели этанол. Если тиамин присутствует в тканях в количествах, превышающих связывающую способность тиамин-зависимых ферментов, а также емкость физиологического депо организма, тиамин быстро экскретируется с мочой в свободной неизменной форме [30].

Рядом исследователей показано, что при взаимодействии пероксида водорода с гемопротейнами, в том числе с цитохромом *c*, формируются высокореакционные оксоферрильные формы гемопротейнов, которые окисляют многие биологически важные молекулы и инициируют перекисное окисление липидов [31–35].

Пероксид водорода образуется в организме как вследствие прямой неэнзиматической реакции дисмутации супероксидов, так и вследствие реакции, катализируемой СОД, а также генерируется аминоксидазой и глюкозооксидазой. Кроме того, постоянно образуют пероксид водорода макрофаги, клетки эндотелия. Перекисное окисление липидов сопровождается образованием органических пероксидов. Следует отметить, что оксоферрильные формы гемопротейнов могут образовываться не только в реакциях с пероксидами, но и при взаимодействии с пероксинитритом [36].

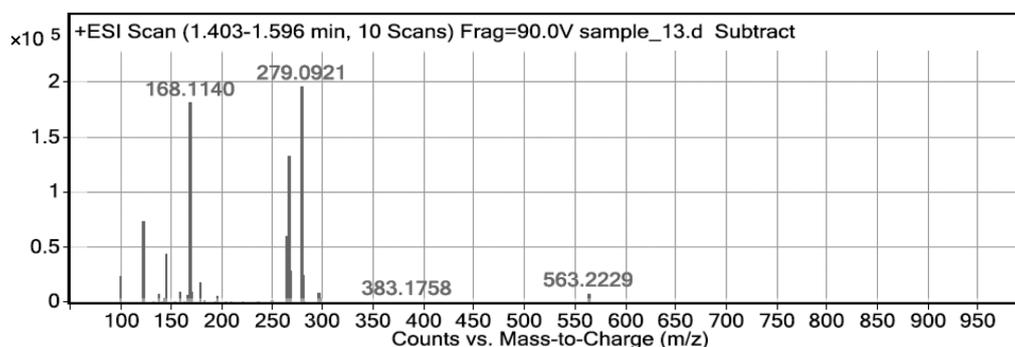
Стационарная концентрация пероксида водорода в крови при физиологических условиях не превышает 0,2 нМ вследствие разрушения каталазой и глутатионпероксидазой [37]. Однако даже под действием этой низкой концентрации пероксида водорода метгемоглобин (или гемоглобин) постоянно окисляется с образованием феррильной формы гемоглобина с радикалом, локализованным на белковой глобуле. Обе оксоферрильные формы гемоглобина – соединение I и соединение II – обнаружены в крови [38].

Концентрация пероксида водорода в крови и тканях сильно возрастает при патологических состояниях, например при ишемии-реперфузии, и может достигать в сердечной мышце при ишемии 10 мкМ и выше.

Целью данной работы являлось исследование окислительной трансформации тиамин и его фосфорных эфиров под действием метмиоглобина и пероксида водорода, а также идентификация продуктов окисления методами ВЭЖХ, флуоресцентной и масс-спектропии.

Материалы и методы исследования. В работе использовали тиамин, тиаминмонофосфат, тиаминдифосфат, тиохром, парацетамол, метмиоглобин из сердца лошади (Sigma, США), аминокислоты L- и D-тирозин, D,L-фенилаланин (Fluka, США), а также другие реагенты высокой очистки производства России и Беларуси.

Продукты окислительной трансформации тиамин, полученные после инкубации тиамин с метмиоглобином в присутствии пероксида водорода, разделяли на индивидуальные соедине-



m/z	z	Интенсивность	Название молекулярного иона
262,09	1	60807,13	Тиохром (M)
265,11	1	133506,58	Тиамин (M + H ⁺)
265,12		40562,3	Тиамин (M + H ⁺)
267,14		29782,29	Тиамин (M + 2H ⁺)
279,09	1	197000,39	Оксодигидротиохром
280,09	1	25458,57	Тиаминтиазолон
563,22		7450	Тиаминдисульфид

Рис. 1. Масс-спектр продуктов окисления тиамин, полученный после инкубации растворов, содержащих смесь метмиоглобина, тиамин и пероксида водорода. Концентрации: метмиоглобин – 10 мкМ, тиамин – 5,0 мМ, пероксид водорода – 1,0 мМ

Fig. 1. Mass spectrum of thiamine oxidation products obtained after incubation of solutions containing a mixture of methmyoglobin, thiamine and hydrogen peroxide. The concentrations: methmyoglobin – 10 μM, thiamine – 5.0 mM, hydrogen peroxide – 1.0 mM

ния на хроматографе Agilent-1100, сорбент Zorbax-extend-C18. Масс-спектры тиамин и его производных регистрировали с использованием квадрупольно-времяпролетного tandemного масс-спектрометрического детектора Q-TOF 6550 в режиме ионизации электрораспылением (ESI). Концентрацию кислорода, образующегося при взаимодействии пероксида водорода с метмиоглобином, измеряли полярографическим методом, используя электрод Кларка (Hansatech Instruments Ltd). Концентрации димеров парацетамола, а также тиохрома и оксодигидротиохрома определяли на спектрофлуориметре CM2203 («Солар», Беларусь) [39].

Результаты и их обсуждение. После инкубации тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода наблюдалось расщепление молекулы тиамин по углероду метиленового мостика и образование в растворе производных пиримидинового и тиазолового компонентов в виде отдельных молекул, а в масс-спектре растворов тиамин после инкубации с метмиоглобином (рис. 1) – образование тиохрома ($m/z = 262,09$), оксодигидротиохрома ($m/z = 279,09$), тиамин-дисульфида, а также продуктов распада тиамин по метиленовому мостик – 2-метил-4-амино-5-гидроксиметилпиримидина ($m/z = 139,09$) и 4-метил-5- β -оксиэтилтиазола ($m/z = 143,00$). Образование молекулярного иона аминопиримидина ($m/z = 139,09$) или ($m/z = 141,95(M + 2H^+)$) наблюдалось только после инкубации тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода.

Аминопиримидиновый продукт разрушения тиамин (2-метил-4-амино-5-гидроксиметилпиримидин), полученный в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином, обладает флуоресценцией с максимумом при 330–335 нм. При комнатной температуре исходный тиамин не обладает регистрируемой флуоресценцией в водном растворе (рис. 2).

Хроматограмма водного раствора тиамин, полученная на «Аджилент-1100», представлена на рис. 3. После инкубации тиамин с метмиоглобином в присутствии пероксида водорода хроматограмма раствора смеси кроме пика тиамин ($R_t = 9,25$ мин) содержит также пики тиамин-тиазолона ($R_t = 7,883$ мин) и тиаминдисульфида ($R_t = 36,388$ мин), которым в масс-спектре соответствуют пики с $m/z = 265,11$, $m/z = 280,09$, $m/z = 563,22$.

Хроматограммы водных растворов тиамин после инкубации с метмиоглобином в присутствии пероксида водорода содержат пик с временем удерживания $R_t = 3,85$ мин, который принадлежит молекулам аминопиримидиновых компонентов, образовавшихся вследствие распада молекулы тиамин по метиленовому мостик. Эти продукты имеют спектр поглощения в ульт-

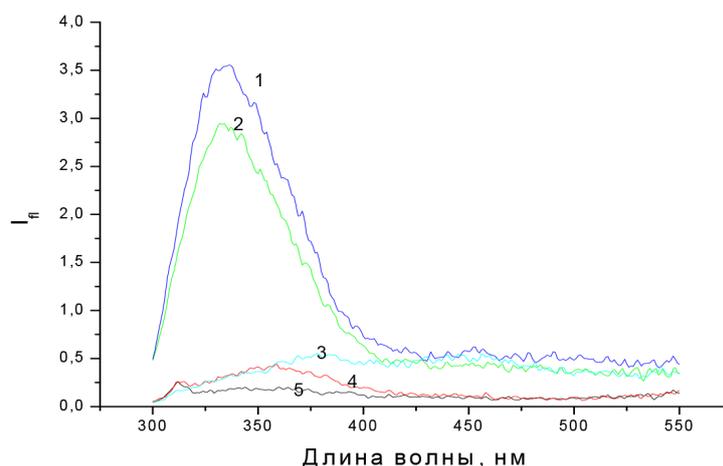


Рис. 2. Спектры флуоресценции продуктов окисления тиамин (Т) после его инкубации с метмиоглобином и пероксидом водорода: 1 – Mb(III) + Т + H₂O₂; 2 – Mb(III) + Т + H₂O₂; 3 – Т + H₂O₂; 4 – Mb(III) + Т + H₂O₂; 5 – Т (длина волны возбуждения – 280 нм; концентрации: Т – 0,05 мМ, пероксид водорода – 1 мМ, Mb(III) для проб 1, 3, 4 – 10 мкМ, для пробы 2 – 5 мкМ; значения pH: растворы проб № 1–3 и 5 – pH = 7,0 (0,05 М фосфатный буфер), раствор пробы № 4 – pH = 9,0)

Fig. 2. Fluorescence spectra of thiamine (T) oxidation products obtained after incubation of thiamine with methmyoglobin and hydrogen peroxide: 1 – Mb(III) + T + H₂O₂; 2 – Mb(III) + T + H₂O₂; 3 – T + H₂O₂; 4 – Mb(III) + T + H₂O₂; 5 – T (the length of the excitation wave – 280 nm; concentrations: T – 0.05 mM, hydrogen peroxide – 1 mM, Mb(III) – 10 μ M for samples N 1, 3, 4 and 5 μ M for sample 2; pH values: for solutions N 1–3 and N 5 – 7.0, for solution N 4 – 9.0)

трафиолетовой области спектра и регистрируются методом абсорбционной спектроскопии на длине волны, равной 280 нм. В масс-спектре им соответствует молекулярный ион с $m/z = 139,09$.

Тиазоловый компонент тиамина имеет полосу поглощения с максимумом при 250 нм, а при 280 нм не регистрируется. Следовательно, образование 2-метил-4-амино-5-амино-метилпиримидина (с $R_t = 3,88$ мин) можно использовать в качестве маркера разрушения тиамина по тиаминному пути при регистрации поглощения в области 250–300 нм (рис. 4).

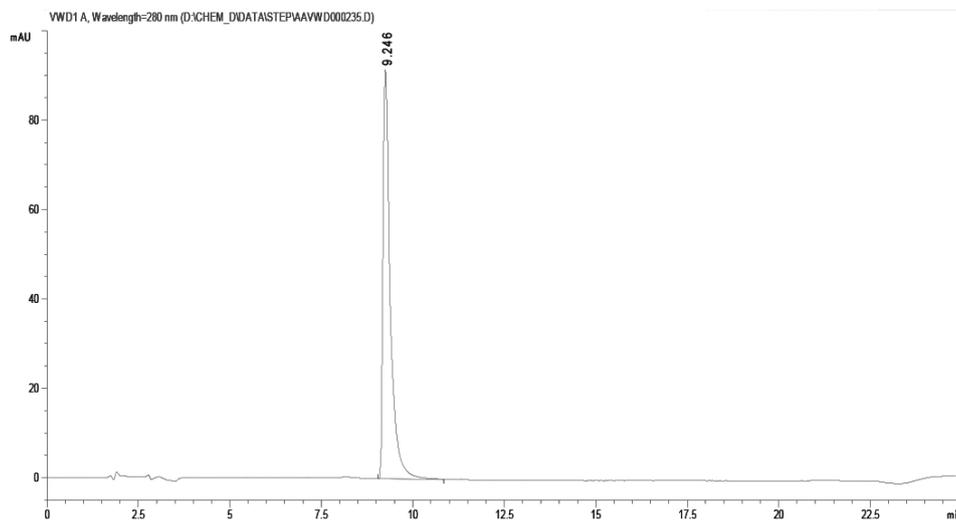


Рис. 3. Хроматограмма водного раствора тиамина, полученная на «Аджилент-1100» (пик тиамина – $R_t = 9,25$ мин; регистрация оптической плотности при длине волны 280 нм; концентрация тиамина – 0,1 мМ; фосфатный буфер, pH = 7,0)

Fig. 3. Chromatogram of aqueous thiamine solution obtained with an Agilent 1100 (the peak of thiamine – $R_t = 9.25$ min; optical density was recorded at a wavelength of 280 nm; the concentration of thiamine – 0.1 mM, phosphate buffer; pH = 7.0)

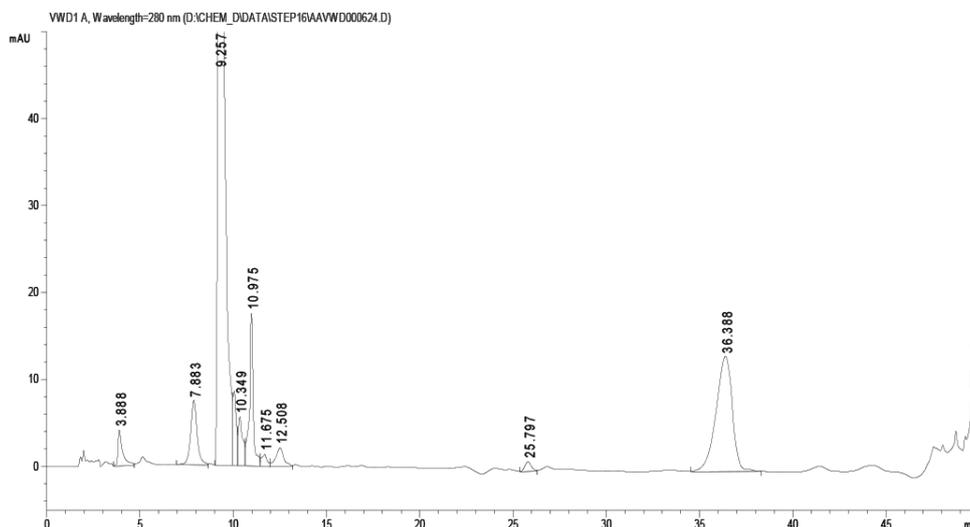


Рис. 4. Хроматограмма водных растворов тиамина (Т) в смеси с метмиоглобином и пероксидом водорода, полученная на «Аджилент-1100» (пики: 2-метил-4-амино-5-гидрокси-метил-пиримидин – $R_t = 3,88$ мин, тиаминтиазолон – $R_t = 7,88$ мин, Т – $R_t = 9,25$ мин, тиазолон – $R_t = 10,97$ мин, тиаминдисульфид – $R_t = 36,38$ мин; исходные концентрации: Т и пероксид водорода – 1,0 мМ, метмиоглобин – 10 мкМ; регистрация оптической плотности при длине волны 280 нм; время инкубации растворов – 20 ч)

Fig. 4. Chromatogram of aqueous thiamine solutions in a mixture with methmyoglobin and hydrogen peroxide obtained with an Agilent 1100 (the peaks: 2-methyl 4-amino 5-hydroxymethyl pyrimidine – $R_t = 3.88$ min, thiamine thiazolone – $R_t = 7.88$ min, T – $R_t = 9.25$ min, thiazolone – $R_t = 10.97$ min, thiamine disulfide – $R_t = 36.38$ min; T and hydrogen peroxide initial concentrations were 1.0 mM and that of methmyoglobin was 10 μ M; optical density was recorded at a wavelength of 280 nm; the incubation time of the solutions was 20 h)

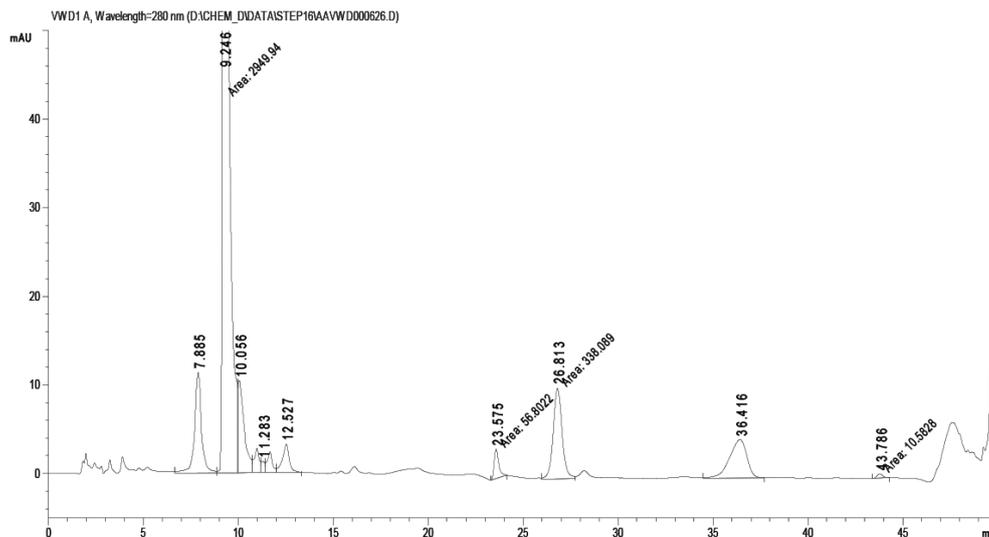


Рис. 5. Хроматограмма водных растворов тиамин (Т) в смеси с метмиоглобином, парацетамолом и пероксидом водорода, полученная на «Аджилент-1100» (пики: тиаминтиазолон – $R_t = 7,88$ мин, Т – $R_t = 9,25$ мин, тиохром – $R_t = 23,51$ мин, тиаминдисульфид – $R_t = 36,38$ мин; исходные концентрации: Т и пероксид водорода – 1,0 мМ, парацетамол – 0,1 мМ, метмиоглобин – 10 мкМ; время инкубации растворов – 20 ч; регистрация оптической плотности пиков выхода продуктов окисления тиамин при длине волны 280 нм)

Fig. 5. Chromatogram of aqueous thiamine solutions in a mixture with methmyoglobin, paracetamol and hydrogen peroxide obtained with an Agilent 1100 (the peaks: thiamine thiazolone – $R_t = 7.88$ min, T – $R_t = 9.25$ min, thiochrome – $R_t = 23.51$ min, thiamine disulfide – $R_t = 36.38$ min; initial concentrations: T and hydrogen peroxide – 1.0 mM, methmyoglobin – 10 μ M; the incubation time of the solutions was 20 h; optical density of peaks of thiamine oxidation products yield was recorded at a wavelength of 280 nm)

Пик со временем удерживания $R_t = 3,88$ мин на хроматограмме, полученной методом ВЭЖХ и представленной на рис. 4, в масс-спектре соответствует пику молекулярного иона с $m/z = 139,09$. В присутствии парацетамола ингибируется расщепление тиамин по углероду метиленового мостика. Пик со временем удерживания $R_t = 3,88$ мин уменьшается вплоть до полного исчезновения (рис. 5).

Результаты измерения продуктов окисления тиамин в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином в отсутствие и в присутствии парацетамола, приведены в табл. 1. Как видно из представленных данных, наряду с расщеплением тиамин по метиленовому мостику происходит окисление молекул тиамин с образованием тиаминдисульфида, оксодигидротиохрома, тиаминтиазолон.

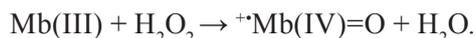
Т а б л и ц а 1. Выход продуктов окисления тиамин в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином, в отсутствие и в присутствии парацетамола

Table 1. Yield of thiamine oxidation products in methemoglobin-catalyzed reaction in the absence and presence of paracetamol

Состав инкубационной смеси	[TChr], мкМ, $R_t = 23$ мин	[ODTChr], мкМ, $R_t = 26$ мин	[T], мкМ, $R_t = 9,25$ мин	[TSST], мкМ, $R_t = 36,38$ мин	[TT], мкМ, $R_t = 7,88$ мин	[AP], мкМ, $R_t = 3,88$ мин
Mb(III) + T + H ₂ O ₂	0,8	25,0	270,6	240,0	30,0	186,0
Mb(III) + T + PAR + H ₂ O ₂	51,0	374,0	293,4	78,0	57,0	90,0

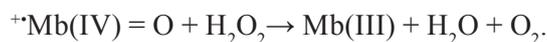
П р и м е ч а н и е. Т – тиамин, TChr – тиохром, ODTChr – оксодигидротиохром, TSST – тиаминдисульфид, TT – тиаминтиазолон, AP – 2-метил-4-амино 5-гидрокси метил пиримидин, PAR – парацетамол. Концентрации: тиамин и H₂O₂ – 1 мМ, парацетамол – 0,1 мМ, метмиоглобин – 10 мкМ. Время инкубации растворов – 20 ч, 0,05 М фосфатный буфер, pH = 7,0.

В реакции между ферри-миоглобином и пероксидом водорода в результате двухэлектронного окисления образуются ⁺Mb(IV=O) (соединение I) с радикалом, локализованным на порфириновом цикле, и молекула воды.



Один эквивалент окислителя расходуется на образование оксоферрильной формы гема Mb(IV=O), а другой – на образование порфиринового катиона π -радикала [9].

В отсутствие легкоокисляющихся субстратов, являющихся донорами электронов, происходит восстановление оксоферрильной формы миоглобина до ферри-формы под действием пероксида водорода:



Взаимодействие оксоферрильной формы миоглобина (соединение I) с пероксидом водорода в отсутствие легкоокисляющихся соединений сопровождается генерацией кислорода и образованием ферри-формы миоглобина. Эти результаты свидетельствуют о разрушении метмиоглобином пероксида водорода по каталазному пути. При высоких концентрациях парацетамола или тиаминина генерация метмиоглобином кислорода ингибируется вследствие разрушения пероксида водорода (табл. 2). Образование продуктов окисления парацетамола и тиаминина наряду с ингибированием генерации кислорода свидетельствует, во-первых, о протекании реакции по пероксидазному механизму, во-вторых, о конкуренции за места связывания молекул парацетамола и тиаминина с оксоферрильным комплексом гема.

Т а б л и ц а 2. Генерация кислорода при взаимодействии пероксида водорода с метмиоглобином в присутствии тиаминина (Т), тиаминдифосфата (ТРР) и парацетамола (РАР)

Table 2. Oxygen generation on interaction of hydrogen peroxide with methmyoglobin in the presence of thiamine (T), thiamine pyrophosphate (TPP) and paracetamol (PAR)

Состав раствора	[O ₂], нмоль/л
Mb(III) + H ₂ O ₂	148
Mb(III) + Т (0,1 мМ) + H ₂ O ₂	73
Mb(III) + Т (0,1 мМ) + РАР (0,1 мМ) + H ₂ O ₂	42
Mb(III) + ТРР (0,1 мМ) + H ₂ O ₂	108

П р и м е ч а н и е. Время инкубации водных растворов – 10 мин. Концентрация метмиоглобина – 10 мкМ, пероксида водорода – 1 мМ, Т, ТРР и РАР – 0,1 мМ.

Результаты измерения продуктов окисления тиаминина дифосфата в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином, в отсутствие и в присутствии парацетамола приведены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Выход продуктов окисления тиаминдифосфата в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином в отсутствие и в присутствии парацетамола

Table 3. Yield of thiamine oxidation products in methemoglobin-catalyzed peroxidase reaction in the absence and presence of paracetamol

Состав	[ТРР], мкМ, Rt = 3,56 мин	[ТChMP], мкМ, Rt = 12,22 мин	[ТChPP], мкМ, Rt = 10,24 мин	[АР], мкМ, Rt = 3,96 мин	[Тz-PP], мкМ, Rt = 2,48 мин
ТРР + Mb + H ₂ O ₂	895,0	–	3,1	51,0	50,0
ТРР + Mb + РАР + H ₂ O ₂	690,0	51,0	200,0	3,0	3,0

П р и м е ч а н и е. ТРР – тиаминдифосфат, ТChMP – тиохроммонофосфат, ТChPP – тиохромдифосфат, АР – 2-метил-4-амино-5-гидроксиэтилпиримидин, Тz-PP – О-дифосфорный эфир 4-метил-5-β-оксиэтилтиазолий. Концентрация Т, ТМР, ТРР и H₂O₂, РАР – 1 мМ, Mb(III) – 10 мкМ. Время инкубации растворов – 20 ч, 0,05 М фосфатный буфер, pH = 7,0.

Тиаминдифосфат и тиаминмонофосфат, так же как и тиамин, ингибируют генерацию кислорода при инкубации с метмиоглобином и пероксидом водорода и расщепляются с образованием аминопиримидинового компонента и соответствующих моно- и дифосфатов тиазолового компонента.

Протекание этой реакции для молекул тиаминина схематически представлено на рис. 6.

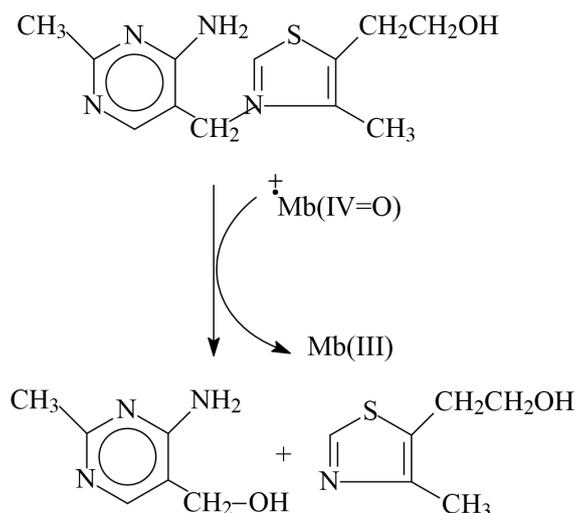


Рис. 6. Предполагаемая схема расщепления молекул тиамин по атому углерода метиленового мостика в реакции, катализируемой метмиоглобином и пероксидом водорода

Fig. 6. Tentative scheme of splitting of the methylene bridge in a thiamine molecule in the methmyoglobin-and hydrogen peroxide-catalyzed reaction

Как видно из данных, приведенных в табл. 3, оксоферрильные формы миоглобина катализируют расщепление и окислительную трансформацию фосфатов тиамин в основном по тиаминному пути. Тиохромфосфаты и фосфаты тиаминдисульфида, в отличие от тиамин, практически не образуются после инкубации фосфорных эфиров тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода. Тирозин и парацетамол ингибируют тиаминазную активность, но увеличивают выход тиохрома или фосфатов тиохрома. В табл. 3 приведены результаты измерения выхода продуктов окисления тиаминдифосфата в пероксидазной реакции, катализируемой метмиоглобином в отсутствие и в присутствии парацетамола.

Следует отметить факт образования тиохроммонофосфата после инкубации тиаминдифосфата с метмиоглобином и пероксидом водорода. Вероятно, в растворе происходит частично гидролиз тиаминдифосфата и затем последующее окисление образовавшегося тиаминдифосфата и тиаминмонофосфата в тиохроммонофосфат (табл. 3).

Цитозольный белок миоглобин содержится в высоких концентрациях в скелетных и сердечных мышцах. Концентрация миоглобина, например, в сердце составляет величину порядка 0,2–0,3 мМ. Как известно, миоглобин в кардиомиоцитах окисляется с образованием супероксиданионов и пероксида водорода [40, 41]. Схематически этот процесс аутоокисления оксимиоглобина можно представить следующими уравнениями:



Предполагается, что образовавшийся пероксид водорода может взаимодействовать с метмиоглобином с образованием оксоферрильных форм миоглобина [41].

Действительно, после смешивания метмиоглобина с пероксидом водорода наблюдается образование оксоферрильных форм миоглобина: $^+\text{Mb(IV=O)}$ (соединение I) и Mb(IV=O) (соединение II), которые легко регистрируются спектрофотометрически [16].

При нормальных физиологических условиях аутоокислительные реакции (1) и (2) очень медленны и протекают с низкой скоростью. Однако если кардиомиоциты функционируют в условиях ишемии (низкое значение pH, низкое давление кислорода в тканях), то резко возрастает образование активных форм кислорода и оксоферрильных форм миоглобина [42, 43], что может вызвать снижение коферментной формы тиамин при окислительном стрессе и нарушение энергетического метаболизма.

Анализ полученных результатов показал, что окислительная трансформация тиамин и фосфорных эфиров протекает различными путями. После инкубации тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода образуются циклические продукты, такие как тиохром и оксидигидро-тиохром, образуется тиаминдисульфид, а кроме того, происходит расщепление молекулы тиамин по метиленовому мостику. Методом ВЭЖХ среди продуктов трансформации тиамин обнаружен продукт, время удерживания которого ($R_t = 3,85$ мин) совпадает с временем удерживания 2-метил-4-амино-5-гидрокси-метил-пиримидина. Таким образом, данные масс-спектрологии, спектрально-флуоресцентные измерения (см. рис. 2), а также данные ВЭЖХ (см. табл. 1, рис. 4) свидетельствуют, вероятнее всего, об образовании 2-метил-4-амино-5-гидрокси-метил-пиримидина после инкубации тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода.

В случае инкубации монофосфата и дифосфата тиамин с оксоферрильными формами миоглобина образование тиохроммонофосфата и тиохромдифосфата затруднено. В смеси, содержащей тиаминдифосфат, пероксид водорода и метмиоглобин, образуются лишь небольшие количества тиохромдифосфата в сравнении с количеством тиохрома и оксидигидро-тиохрома, образовавшихся в растворах, содержащих тиамин. Эти результаты позволяют предположить, что вход в гемовый карман для молекул фосфорных эфиров тиамин затруднен по сравнению с молекулами тиамин.

Заключение. После инкубации тиамин с метмиоглобином и пероксидом водорода происходит расщепление молекулы тиамин по углероду метиленового мостика и в растворе образуются аминопиримидиновый и тиазоловый компоненты в виде отдельных молекул.

Тиаминмонофосфат и тиаминдифосфат после инкубации с метмиоглобином и пероксидом водорода также расщепляются с образованием аминопиримидинового компонента и соответствующих моно- и дифосфатов тиазолового компонента.

Тирозин и парацетамол ингибируют в обоих случаях тиаминазную активность, но увеличивают выход тиохрома или фосфатов тиохрома. Полученные результаты позволяют заключить, что тиамин и фосфорные эфиры тиамин расщепляются по метиленовому мостику под действием не только тиаминаз, но и метмиоглобина. Предполагается, что при разрушении тиаминдифосфата оксоферрильными формами миоглобина может наблюдаться недостаток тиамин в сердечной мышце при окислительном стрессе.

Список использованных источников

1. Inouye, K. Etiology and pathology of beriberi / K. Inouye, E. Katsura // Beriberi and Thiamine / ed. : N. Shimazono, E. Katsura. – Tokyo, 1965. – P. 1–28.
2. Tanphaichitr, V. Thiamine / V. Tanphaichitr // Handbook of Vitamins / ed. : R. B. Rucker [et al.]. – 3rd ed. – New York, 2001. – P. 275–316.
3. Lonsdale, D. A review of the biochemistry, metabolism and clinical benefits of thiamine and its derivatives / D. Lonsdale // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2006. – Vol. 3, N 1. – P. 49–59.
4. Jordan, F. Current mechanistic understanding of thiamine diphosphate-dependent enzymatic reactions / F. Jordan // Natural Product Reports. – 2003. – Vol. 20, N 2. – P. 184–201.
5. Bâ, A. Metabolic and structural role of thiamine in nervous tissues / A. Bâ // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2008. – Vol. 28, N 7. – P. 923–931.
6. Cooper, J. R. The role of thiamine in nervous tissue / J. R. Cooper, J. H. Pincus // Neurochemical Research. – 1979. – Vol. 4, N 2. – P. 223–239.
7. Itokawa, Y. Thiamine in nerve membranes / Y. Itokawa, R. A. Schulz, J. R. Cooper // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). – Biomembranes. – 1972. – Vol. 266, N 1. – P. 293–299.
8. Matsuda, T. Thiamine as an integral component of brain synaptosomal membranes / T. Matsuda, J. R. Cooper // Proc. of the Nat. Acad. of Sciences. – 1981. – Vol. 78, N 9. – P. 5886–5889.
9. Thiamine and Alzheimer's disease. A pilot study / J. P. Blass [et al.] // Archives of Neurology. – 1988. – Vol. 45, N 8. – P. 833–835.
10. Brown, L. A. Chronic ethanol ingestion potentiates TNF-alpha-mediated oxidative stress and apoptosis in rat type II cells / L. A. Brown, F. L. Harris, D. M. Guidot // Amer. J. of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2001. – Vol. 281, N 2. – P. 377–386.
11. Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage *in vitro* / U. Schmid [et al.] // Diabetes/Metabolism Research and Rev. – 2008. – Vol. 24, N 5. – P. 371–377.
12. Changes in nitric oxide synthase-containing neurons in the brain of thiamine-deficient mice / H. Matsushita [et al.] // Acta Histochemica et Cytochemica. – 2000. – Vol. 33, N 2. – P. 67–72.

13. Calingasan, N. Y. Vascular endothelium is a site of free radical production and inflammation in areas of neuronal loss in thiamine-deficient brain / N. Y. Calingasan, G. E. Gibson // *Annals of the New York Acad. of Sciences*. – 2000. – Vol. 903, N 1. – P. 353–356.
14. Gibson, G. E. Thiamine-dependent processes and treatment strategies in neurodegeneration / G. E. Gibson, J. P. Blass // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2007. – Vol. 9, N 10. – P. 1605–1619.
15. Gibson, G. E. Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration / G. E. Gibson, H. Zhang // *Neurochemistry Intern.* – 2002. – Vol. 40, N 6. – P. 493–504.
16. Stepuro, I. I. Oxidized thiamine derivatives. Mechanisms of formation under exposure to reactive nitrogen and oxygen species and in hemoprotein – catalyzed reactions / I. I. Stepuro, V. I. Stepuro. – [s. l.] : LAP LAMBERT Acad. Publ., 2014. – 280 p.
17. Van Dort, H. M. Identification and synthesis of new odor compounds from photolysis of thiamine / H. M. Van Dort, L. M. Van der Linde, D. de Rijke // *J. of Agricultural and Food Chemistry*. – 1984. – Vol. 32, N 3. – P. 454–457.
18. Березовский, В. М. Химия витаминов / В. М. Березовский. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Пищевая пром-сть, 1973. – 632 с.
19. Potent radical-scavenging activities of thiamin and thiamin diphosphate / Y. Okai [et al.] // *J. of Clinical Biochemistry and Nutrition*. – 2007. – Vol. 40, N 1. – P. 42–48.
20. Stepuro, I. I. Thiamine and vasculopathies / I. I. Stepuro // *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. – 2005. – Vol. 72, N 2. – P. 115–127.
21. Reddi, K. K. Purification and separation of the two thiaminases in fresh water mussel (*Lamellidens marginalis*) / K. K. Reddi, K. V. Giri // *Enzymologia*. – 1948/1949. – Vol. 13. – P. 281.
22. Островский, Ю. М. Тиамин : избр. главы по биохимии витамина В1 / Ю. М. Островский. – Минск : Беларусь, 1971. – 142 с.
23. Fujita, A. The second type of bacterial thiaminase / A. Fujita, Y. Nose, K. Kuratani // *J. of Vitaminology*. – 1954. – Vol. 1, N 1. – P. 1–7.
24. Somogyi, J. C. Connection between chemical structure and antithiamine activity of various phenol derivatives / J. C. Somogyi, R. Bönicke // *Intern. Ztschr. für Vitaminforschung*. – 1969. – Vol. 39, N 1. – P. 65–73.
25. Somogyi, J. On antithiamine factors of fern / J. Somogyi // *J. of Vitaminology*. – 1971. – Vol. 17, N 3. – P. 165–174.
26. Beriberi caused by antithiamin factors in food and its prevention / S. Vimokesant [et al.] // *Annals of the New York Acad. of Sciences*. – 1982. – Vol. 378, N 1. – P. 123–136.
27. Chemical interactions between thiamin and tannic acid. I. Kinetics, oxygen dependence and inhibition by ascorbic acid / K. Rungruangsak [et al.] // *Amer. J. of Clinical Nutrition*. – 1977. – Vol. 30, N 10. – P. 1680–1685.
28. Singleton, C. K. Molecular mechanisms of thiamine utilization / C. K. Singleton, P. R. Martin // *Current Molecular Medicine*. – 2001. – Vol. 1, N 2. – P. 197–207.
29. Ariaey-Nejad, M. R. 4-Methylthiazole-5-acetic acid – a urinary metabolite of thiamine / M. R. Ariaey-Nejad, W. N. Pearson // *J. of Nutrition*. – 1968. – Vol. 96, N 4. – P. 445–449.
30. Основы биохимии / А. Уайт [и др.]; пер. с англ. Л. М. Гинодмана. – М. : Мир, 1981. – Т. 3. – С. 1155–1878.
31. Everse, J. Peroxidative activities of hemoglobin and hemoglobin derivatives / J. Everse, M. C. Johnson, M. A. Marini // *Methods in Enzymology*. – 1994. – Vol. 231. – P. 547–561.
32. Everse, J. The toxicities of native and modified hemoglobins / J. Everse, N. Hsia // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1997. – Vol. 22, N 6. – P. 1075–1099.
33. Herold, S. Kinetic and mechanistic studies of the reactions of nitrogen monoxide and nitrite with ferryl myoglobin / S. Herold, F.-J. K. Rehman // *J. of Biol. Inorganic Chemistry*. – 2001. – Vol. 6, N 5–6. – P. 543–555.
34. Evidence for the role of a peroxidase compound I-type intermediate in the oxidation of glutathione, NADH, ascorbate, and dichlorofluorescein by cytochrome c/H₂O₂ / A. Lawrence [et al.] // *J. Biol. Chemistry*. – 2003. – Vol. 278, N 32. – P. 29410–29419.
35. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide / I. I. Stepuro [et al.] // *Biochemistry (Moscow)*. – 2012. – Vol. 77, N 1. – P. 41–55.
36. Exner, M. Kinetic and mechanistic studies of the peroxynitrite – mediated oxidation of oxymyoglobin and oxyhemoglobin / M. Exner, S. Herold // *Chem. Research in Toxicology*. – 2000. – Vol. 13, N 4. – P. 287–293.
37. Giulivi, C. [30] Hydrogen peroxide mediated ferrilhemoglobin generation *in vitro* and in red blood cells / C. Giulivi, K. J. A. Davies // *Methods in Enzymology*. – 1994. – Vol. 231. – P. 490–496.
38. The globin-based free radical of ferryl hemoglobin is detected in normal human blood / D. A. Svistunenko [et al.] // *J. of Biol. Chemistry*. – 1997. – Vol. 272, N 11. – P. 7114–7121.
39. Оксоферильные формы миоглобина и гемоглобина в присутствии фенолсодержащих соединений катализируют окислительную трансформацию тиамина и его производных / С. А. Лабор [и др.] // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2017. – № 2. – С. 55–65.
40. Shikama, K. Autoxidation of oxymyoglobin: A meeting point of the stabilization and the activation of molecular oxygen / K. Shikama // *Biological Reviews*. – 1990. – Vol. 65, N 4. – P. 517–527.
41. Yusa, K. Oxidation of oxymyoglobin to metmyoglobin with hydrogen peroxide: Involvement of ferrylintermediate / K. Yusa, K. Shikama // *Biochemistry*. – 1987. – Vol. 26, N 21. – P. 6684–6688.
42. Mechanism of autooxidation for hemoglobins and myoglobins. Promotion of superoxide production by protons and anions / W. J. Wallace [et al.] // *J. of Biol. Chemistry*. – 1982. – Vol. 257, N 9. – P. 4966–4977.
43. Gunther, M. R. Potential roles of myoglobin autoxidation in myocardial ischemia-reperfusion injury / M. R. Gunther, V. Sampath, W. S. Caughey // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1999. – Vol. 26, N 11–12. – P. 1388–1395.

References

1. Inouye K., Katsura E. Etiology and pathology of beriberi. *Beriberi and Thiamine*. Tokyo, 1965, pp. 1–28.
2. Tanphaichitr V. Thiamine. *Handbook of Vitamins*. 3rd ed. New York, 2001, pp. 275–316.
3. Lonsdale D. A review of the biochemistry, metabolism and clinical benefits of thiamin(e) and its derivatives. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2006, vol. 3, no. 1, pp. 49–59. DOI: 10.1093/ecam/nek009
4. Jordan F. Current mechanistic understanding of thiamin diphosphate-dependent enzymatic reactions. *Natural Product Reports*, 2003, vol. 20, no. 2, pp. 184–201. DOI: 10.1039/b111348h
5. Bâ A. Metabolic and structural role of thiamine in nervous tissues. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2008, vol. 28, no. 7, pp. 923–931. DOI: 10.1007/s10571-008-9297-7
6. Cooper J. R., Pincus J. H. The role of thiamine in nervous tissue. *Neurochemical Research*, 1979, vol. 4, no. 2, pp. 223–239. DOI: 10.1007/bf00964146
7. Itokawa Y., Schulz R. A., Cooper J. R. Thiamine in nerve membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1972, vol. 266, no. 1, pp. 293–299. DOI: 10.1016/0005-2736(72)90144-7
8. Matsuda T., Cooper J. R. Thiamine as an integral component of brain synaptosomal membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1981, vol. 78, no. 9, pp. 5886–5889. DOI: 10.1073/pnas.78.9.5886
9. Blass J. P., Gleason P., Brush D., DiPonte P., Thaler H. Thiamine and Alzheimer's disease. A pilot study. *Archives of Neurology*, 1988, vol. 45, no. 8, pp. 833–835. DOI: 10.1001/archneur.1988.00520320019008
10. Brown L. A., Harris F. L., Guidot D. M. Chronic ethanol ingestion potentiates TNF-alpha-mediated oxidative stress and apoptosis in rat type II cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2001, vol. 281, no. 2, pp. 377–386. DOI: 10.1152/ajplung.2001.281.2.1377
11. Schmid U., Stopper H., Heidland A., Schupp N. Benfotiamine exhibits direct antioxidative capacity and prevents induction of DNA damage *in vitro*. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 2008, vol. 24, no. 5, pp. 371–377. DOI: 10.1002/dmrr.860
12. Matsushita H., Takeuchi Y., Kosaka K., Fushiki Sh., Kawata M., Sawada T. Changes in nitric oxide synthase-containing neurons in the brain of thiamine-deficient mice. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 2000, vol. 33, no. 2, pp. 67–72. DOI: 10.1267/ahc.33.67
13. Calingasan N. Y., Gibson G. E. Vascular endothelium is a site of free radical production and inflammation in areas of neuronal loss in thiamine-deficient brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, vol. 903, pp. 353–356. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06386.x
14. Gibson G. E., Blass J. P. Thiamine-dependent processes and treatment strategies in neurodegeneration. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2007, vol. 9, no. 10, pp. 1605–1619. DOI: 10.1089/ars.2007.1766
15. Gibson G. E., Zhang H. Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. *Neurochemistry International*, 2002, vol. 40, no. 6, pp. 493–504. DOI: 10.1016/s0197-0186(01)00120-6
16. Stepuro I. I., Stepuro V. I. *Oxidized thiamine derivatives. Mechanisms of formation under exposure to reactive nitrogen and oxygen species and in hemoprotein – catalyzed reactions*. S. l., LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. 280 p.
17. Van Dort H. M., Van der Linde L. M., de Rijke D. Identification and synthesis of new odor compounds from photolysis of thiamine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1984, vol. 32, no. 3, pp. 454–457. DOI: 10.1021/jf00123a007
18. Berezovskii V. M. *Chemistry of Vitamins*. 2nd ed. Moscow, Pishchevaya promyshlennost' Publ., 1973. 632 p. (in Russian).
19. Okai Y., Higashi-Okai K., Sato E. F., Konaka R., Inoue M. Potent radical-scavenging activities of thiamin and thiamin diphosphate. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2007, vol. 40, no. 1, pp. 42–48. DOI: 10.3164/jcfn.40.42
20. Stepuro I. I. Thiamine and vasculopathies. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2005, vol. 72, no. 2, pp. 115–127. DOI: 10.1016/j.plefa.2004.10.009
21. Reddi K. K., Giri K.V. Purification and separation of the two thiaminases in fresh water mussel (*Lamellidens marginalis*). *Enzymologia*, 1948/1949, vol. 13, p. 281.
22. Ostrovskii Yu. M. *Thiamine: Selected chapters on the biochemistry of vitamin B1*. Minsk, Belarus' Publ., 1971. 142 p. (in Russian).
23. Fujita A., Nose Y., Kuratani K. The second type of bacterial thiaminase. *Journal of Vitaminology*, 1954, vol. 1, no. 1, pp. 1–7. DOI: 10.5925/jnsv1954.1.1
24. Somogyi J. C., Bönické R. Connection between chemical structure and antithiamine activity of various phenol derivatives. *Internationale Zeitschrift für Vitaminforschung*, 1969, vol. 39, no. 1, pp. 65–73.
25. Somogyi J. On antithiamine factors of fern. *Journal of Vitaminology*, 1971, vol. 17, no. 3, pp. 165–174. DOI: 10.5925/jnsv1954.17.165
26. Vimokesant S., Kunjara S., Rungruangsak K., Nakornchai S., Panijpan B. Beriberi caused by antithiamin factors in food and its prevention. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1982, vol. 378, no. 1, pp. 123–136. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1982.tb31191.x
27. Rungruangsak K., Tosukh Wong P., Panijpan B., Vimokesant S. L. Chemical interactions between thiamin and tannic acid. I. Kinetics, oxygen dependence and inhibition by ascorbic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1977, vol. 30, no. 10, pp. 1680–1685. DOI: 10.1093/ajcn/30.10.1680
28. Singleton C. K., Martin P. R. Molecular mechanisms of thiamine utilization, *Current Molecular Medicine*, 2001, vol. 1, no. 2, pp. 197–207. DOI: 10.2174/1566524013363870
29. Ariaey-Nejad M. R., Pearson W. N. 4-Methylthiazole-5-acetic acid – a urinary metabolite of thiamine. *Journal of Nutrition*, 1968, vol. 96, no. 4, pp. 445–449. DOI: 10.1093/jn/96.4.445

30. White A., Hendler F., Smith E., Hill P., Leman I. *Principles of Biochemistry*. 6th ed. New York, McGraw-Hill, 1978. 1492 p. (Russ. ed. : Uait A., Khendler F., Smit E., Khill R., Leman I. *Principles of Biochemistry*. Moscow, Mir Publ., 1981, vol. 3, pp. 1155–1878).
31. Everse J., Johnson M. C., Marini C. Peroxidative activities of hemoglobin and hemoglobin derivatives. *Methods in Enzymology*, 1994, vol. 231, pp. 547–561. DOI: 10.1016/0076-6879(94)31038-6
32. Everse J., Hsia N. The toxicities of native and modified hemoglobins. *Free Radical Biology and Medicine*, 1997, vol. 22, no. 6, pp. 1075–1099. DOI: 10.1016/s0891-5849(96)00499-6
33. Herold S., Rehman F.-J. K. Kinetic and mechanistic studies of the reactions of nitrogen monoxide and nitrite with ferryl myoglobin. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2001, vol. 6, no. 5–6, pp. 543–555. DOI: 10.1007/s007750100231
34. Lawrence A., Jones C. M., Wardman P., Burkitt M. J. Evidence for the role of a peroxidase compound I-type intermediate in the oxidation of glutathione, NADH, ascorbate, and dichlorofluorescein by cytochrome c/H₂O₂. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, vol. 278, no. 32, pp. 29410–29419. DOI: 10.1074/jbc.m300054200
35. Stepuro I. I., Oparin A. Yu., Stsiapura V. I., Maskevich S. A., Titov V. Yu. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide. *Biochemistry (Moscow)*, 2012, vol. 77, no. 1, pp. 41–55. DOI: 10.1134/s0006297912010051
36. Exner M., Herold S. Kinetic and mechanistic studies of the peroxynitrite – mediated oxidation of oxymyoglobin and oxyhemoglobin. *Chemical Research in Toxicology*, 2000, vol. 13, no. 4, pp. 287–293. DOI: 10.1021/tx990201k
37. Giulivi C., Davies K. J. A. [30] Hydrogen peroxide mediated ferrilhemoglobin generation *in vitro* and in red blood cells. *Methods in Enzymology*, 1994, vol. 231, pp. 490–496. DOI: 10.1016/0076-6879(94)31032-7
38. Svistunenko D. A., Patel R. P., Voloshchenko S. V., Wilson M. T. The globin-based free radical of ferryl hemoglobin is detected in normal human blood. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, no. 11, pp. 7114–7121. DOI: 10.1074/jbc.272.11.7114
39. Labor S. A., Stepuro V. I., Stepuro I. I., Smirnov V. Yu. In the presence of phenol-containing compounds oxoferryl forms of myoglobin and hemoglobin catalyze oxidative transformation of thiamine and its derivatives. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 2, pp. 55–65 (in Russian).
40. Shikama K. Autoxidation of oxymyoglobin: A meeting point of the stabilization and the activation of molecular oxygen. *Biological Reviews*, 1990, vol. 65, no. 4, pp. 517–527. DOI: 10.1111/j.1469-185X.1990.tb01236.x
41. Yusa K., Shikama K. Oxidation of oxymyoglobin to metmyoglobin with hydrogen peroxide: Involvement of ferryl intermediate. *Biochemistry*, 1987, vol. 26, no. 21, pp. 6684–6688. DOI: 10.1021/bi00395a018
42. Wallace W. J., Houtchens R. A., Maxwell J. C., Caughey W. S. Mechanism of autooxidation for hemoglobins and myoglobins. Promotion of superoxide production by protons and anions. *Journal of Biological Chemistry*, 1982, vol. 257, no. 9, pp. 4966–4977.
43. Gunther M. R., Sampath V., Caughey W. S. Potential roles of myoglobin autoxidation in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, vol. 26, no. 11–12, pp. 1388–1395. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00338-4

Информация об авторах

Stepuro Ivan Ivanovich – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, доцент. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: scepura@gmail.com.

Labor Svetlana Alekseevna – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: swet.labor2010@yandex.by.

Shuryberka Aleksey Vladimirovich – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: the_chemistry@tut.by.

Stepuro Vitaliy Ivanovich – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник, доцент. Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: stsiapura@gmail.com.

Smirnov Vitaliy Yuryevich – ст. науч. сотрудник, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vit_sm@mail.ru.

Yantsevich Aleksey Viktorovich – канд. хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Ivan I. Stepuro – Ph. D. (Biol.), Leading researcher, Assistant Professor. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: scepura@gmail.com.

Svetlana A. Labor – Postgraduate student, Junior researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: swet.labor2010@yandex.by.

Aliaksei V. Shuryberka – Postgraduate student, Junior researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: the_chemistry@tut.by.

Vitaliy I. Stsiapura – Ph. D. (Phys. and Math.), Leading researcher, Assistant Professor. Yanka Kupala Grodno State University (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: stsiapura@gmail.com.

Vitaliy Y. Smirnov – Senior Researcher, Assistant Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vit_sm@mail.ru.

Yantsevich Aleksey V. – Ph. D. (Chem.), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 634.737:581.5:581.522.4(476)

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-188-200

Поступила в редакцию 18.10.2017

Received 18.10.2017

Ж. А. Рупасова¹, А. П. Яковлев¹, И. В. Савосько¹, Л. Ф. Кабашникова², И. И. Лиштван³

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

³Институт природопользования НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ УДОБРЕНИЙ И СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПИГМЕНТОВ В РАСТЕНИЯХ ГОЛУБИКИ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НА ВЫРАБОТАННЫХ ТОРФЯНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЯХ НИЗИННОГО ТИПА

Аннотация. Приведены результаты сравнительного исследования влияния полного минерального удобрения и ростовых стимуляторов – Нанопланта, Гидрогумата и Экосила на основные характеристики пигментного фонда ассимилирующих органов дву- и четырехлетних растений (виргинильных и генеративных) двух модельных сортов *V. corymbosum* L. – *Bluecrop* и *Northland*. Выявлены существенные генотипические, возрастные и межвариантные различия в характере и степени ответной реакции растений на примененные агроприемы. Показано, что после внесения удобрений у генеративных растений голубики содержание в листовой ткани фотосинтезирующих пигментов превышало таковое у виргинильных на фоне неоднозначных тенденций в изменении темпов их накопления. Наряду с этим выявлены существенные сдвиги в составе каротиноидного комплекса пластид, обусловленные чрезвычайно выраженной активизацией биосинтеза β-каротина при деградации ксантофиллов, усиливающейся с увеличением возраста растений, особенно у сорта *Northland*.

У виргинильных растений интегральное стимулирующее действие удобрений на формирование пигментного фонда пластид проявилось только у сорта *Northland* при наибольшей эффективности внесения $N_{16}P_{16}K_{16}$ и наименьшей после обработки Наноплантом, при различии степени их позитивного влияния в 20,9 раза. Эффективность применения Экосила и Гидрогумата уступала таковой $N_{16}P_{16}K_{16}$ в 1,4 и 2,2 раза соответственно. У сорта *Bluecrop* незначительное позитивное влияние на содержание в листьях пластидных пигментов установлено только на фоне $N_{16}P_{16}K_{16}$ при абсолютном доминировании ингибирующего воздействия на него остальных видов удобрений.

У растений, достигших половой зрелости, установлено существенное нивелирование сортовых различий в степени восприимчивости пигментного фонда пластид к использованию удобрений. В отличие от виргинильных растений, за счет более выраженной у генеративных растений активизации биосинтеза β-каротина совокупный эффект у обоих сортов голубики после внесения удобрений имел исключительно положительную направленность. Наиболее значительные позитивные изменения темпов накопления фотосинтезирующих пигментов у обоих сортов голубики обеспечивало внесение $N_{16}P_{16}K_{16}$ и Гидрогумата, тогда как наименьшие отмечены при обработке Наноплантом (у сорта *Bluecrop*) и Экосилом (у сорта *Northland*).

Ключевые слова: хлорофилл, β-каротин, ксантофиллы, удобрения, регуляторы роста, голубика

Для цитирования: Влияние удобрений и стимуляторов роста на содержание фотосинтезирующих пигментов в растениях голубики, культивируемых на выработанных торфяных месторождениях низинного типа / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. Біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 188–200. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-188-200

Zh. A. Rupasova¹, A. P. Yakovlev¹, I. V. Savosko¹, L. F. Kabashnikova², I. I. Lishtvan³

¹Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

³Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

EFFECT OF FERTILIZERS AND GROWTH STIMULATORS ON THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN BLUEBERRY PLANTS CULTIVATED ON DEVELOPED LOW-LYING PEAT DEPOSITS

Abstract. The results of a comparative study of the effect of complete mineral fertilizers and growth stimulators Nanoplant, Hydrohumate and Ecosil on the main characteristics of the pigment fond of the assimilating organs of two- and three-year (brepic and nobilous) plants of the two model varieties *V. corymbosum* L.– *Bluecrop* and *Northland* are presented. Significant genotypic, age and intervariant differences in the character and degree of response of plants to tested agrotechnologies have been revealed. It has been shown that the sexually mature blueberry plants were characterized by a higher content of photosynthetic pigments in the leaf tissue than the juvenile ones, against the background of differences in the rates of their

accumulation when fertilizers were using. Substantial shifts in the composition of the carotenoid complex were revealed on a high agrophone, due to the extremely activation of β -carotene, biosynthesis in the degradation of xanthophylls, which increased with age of plants.

In juvenile plants, the integral stimulating effect of fertilizers on the formation of the fond of plastid pigments was manifested only in the *Northland* variety with the highest efficiency of application of $N_{16}P_{16}K_{16}$ and the least of the treatments with Nanoplant and at a divergence of the degree of their positive influence in 20.9 times. The effectiveness of the application of Ecosil and Hydrohumate was inferior to that of $N_{16}P_{16}K_{16}$, respectively, by 1.4 and 2.2 times. *Bluecrop* has an insignificant positive effect on the content of plastid pigment in leaves only on the background of $N_{16}P_{16}K_{16}$ with an absolute dominance of the inhibitory effect on it of other types of fertilizers.

In plants that have reached puberty, a substantial leveling of varietal differences in the degree of sensitivity of the pigments in plastids to the use of fertilizers has been established. In contrast to juvenile plants, due to the more pronounced activation of β -carotene biosynthesis in them, the combined effect in both varieties of blueberry on the fertilized agro background was extremely positive. The most significant positive changes in the rate of accumulation of photosynthetic pigments in both varieties of blueberry were provided by the addition of $N_{16}P_{16}K_{16}$ and Hydrohumate, while the least significant ones were processed by Nanoplant (from *Bluecrop*) and EcoSil (from *Northland*).

Keywords: chlorophyll, β -carotene, xanthophylls, fertilization, growth regulators, blueberry

For citation: Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Savosko I. V., Kabashnikova L. F., Lishtvan I. I. Effect of fertilizers and growth stimulators on the content of photosynthetic pigments in blueberry plants cultivated on developed low-lying peat deposits. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 188–200 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-188-200

Введение. В связи с разработкой технологии фиторекультивации выбывших из промышленной эксплуатации торфяных месторождений низинного типа на основе создания локальных агроценозов интродуцированных ягодных растений сем. Ericaceae, в том числе голубики высококорослой, особого внимания заслуживают вопросы оптимизации минерального питания данной культуры. В этой связи представлялось необходимым дать комплексную оценку эффективности не только традиционно применяемого при ее возделывании полного минерального удобрения, но и новейших высокоэффективных отечественных препаратов, успешно апробированных на ряде сельскохозяйственных культур [1–4]. Одним из таких препаратов является ростовой стимулятор Экосил, содержащий природный комплекс тритерпеновых кислот [5]. Экспериментально установлено его позитивное действие на продуктивность растений и качество продукции из них при повышении устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды. Весьма эффективным признан также натуральный рострегулирующий препарат Гидрогумат, действующим веществом которого являются гуматы – водорастворимые соли гуминовых кислот, определяющие его высокую эффективность в качестве стимулятора роста [6]. Его применение обеспечивает повышение урожайности сельскохозяйственных культур на 15–50 % при значительном улучшении качества продукции и снижении ее себестоимости [4, 7]. Известно также, что гуматы положительно влияют на фотосинтетическую деятельность растений и активизируют включение минеральных макро- и микроэлементов в процессы биосинтеза действующих веществ разной химической природы, выполняя функции биологически активных соединений [8, 9].

Наряду с этими препаратами весьма актуальным, на наш взгляд, являлось испытание на растениях голубики еще одного высокоэффективного отечественного стимулятора роста – микроудобрения Наноплант-8, включающего 8 микроэлементов – Co, Mn, Cu, Fe, Zn, Cr, Mo, Se. Данный препарат является совместной разработкой Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича и Института физико-органической химии НАН Беларуси. Экспериментально доказано его позитивное действие на урожайность и качественные показатели продукции зерновых, зернобобовых, овощных, плодовых и ягодных культур [2, 3]. Предварительные испытания данного препарата на сорте *Bluecrop V. corymbosum* на среднекультуренной дерново-подзолистой почве в Ганцевичском районе Брестской области также подтвердили его высокую эффективность в плане увеличения урожайности и биометрических характеристик плодов, а также повышения содержания в них ряда биологически активных соединений с высокой антиоксидантной активностью [10].

Важнейшим критерием ответной реакции культивируемых растений на применение удобрений является характер изменений в пигментном комплексе пластид ассимилирующих органов. В скри-

нинговых исследованиях ряда авторов показано стимулирующее действие физиологически активных веществ и минеральных удобрений на продукционные процессы и накопление хлорофилла в листьях овощных и зерновых культур, способствующее повышению интенсивности фотосинтеза [11–13]. В этой связи в 2016–2017 гг. на рекультивируемом участке торфяной залежи низинного типа в Березинском районе Минской области в период активной вегетации растений голубики были выполнены сравнительные исследования влияния минеральных удобрений и рострегулирующих препаратов на основные характеристики пигментного фонда ассимилирующих органов данной культуры.

Цель работы – изучение влияния удобрений и ростовых стимуляторов на основные характеристики пигментного фонда ассимилирующих органов дву- и четырехлетних растений двух модельных сортов *V. corymbosum* – *Bluecrop* и *Northland*.

Объекты и методы исследований. В качестве объектов исследований были использованы дву- и четырехлетние растения двух среднеспелых модельных сортов *V. corymbosum* L. – *Bluecrop* и *Northland*.

Полевые опыты были заложены на участке среднекислого ($\text{pH}_{\text{KCl}} 5,5\text{--}5,7$), малоплодородного, полностью лишённого растительности остаточного слоя низинного торфа высокой степени разложения, представленного осоково-гипновой ассоциацией, содержащего по 16–28 мг/кг аммонийного и нитратного азота, 55–61 и 33–42 мг/кг P_2O_5 и K_2O соответственно. Схема полевого опыта включала 5 вариантов в 5-кратной повторности: **1** – контроль, без внесения удобрений; **2** – луночное внесение под опытные растения в мае и июне полного минерального удобрения $\text{N}_{16}\text{P}_{16}\text{K}_{16}$ кг/га д. в., или 5 г/раст.; **3** – некорневая обработка опытных растений препаратом Наноплант; **4** – луночное внесение под опытные растения препарата Гидрогумат методом полива; **5** – некорневая обработка опытных растений препаратом Экосил. Во всех вариантах было высажено по 5 растений каждого сорта голубики.

В качестве полного минерального удобрения использовали Растворин марки «Б». Обработку надземных органов растений Экосилом проводили дважды за вегетационный период. Первый раз ее осуществляли в утренние часы в конце первой декады июня, второй раз – в конце первой декады июля, на начальном этапе созревания плодов. Для приготовления рабочего раствора эмульсию Экосила (0,5 мл, или 15 капель) разводили в 3 л теплой воды (40–50 °С), после чего доводили до необходимого объема водой комнатной температуры и тщательно перемешивали. Расход рабочей жидкости при некорневой подкормке составлял 120 мл/раст. Луночное внесение Гидрогумата проводили в те же сроки, что и Экосила. Для приготовления рабочего раствора 40 мл эмульсии Гидрогумата растворяли в 10 л воды. Расход рабочей жидкости при поливе составлял 0,5 л/раст. В отличие от двух предыдущих препаратов, обработка опытных растений Наноплантом производилась, кроме обозначенных выше сроков, еще и в период их цветения – в середине июня, т. е. трижды за вегетационный период. Для приготовления рабочего раствора 30 капель препарата растворяли в 3 л воды. Расход рабочей жидкости при некорневой обработке составлял 120 мл/раст.

В свежих усредненных пробах листьев опытных растений содержание фотосинтезирующих пигментов (хлорофиллов *a* и *b*) исследовали повариантно по методу Т. Н. Годнева [14, 15], β -каротина и суммы каротиноидов – по ГОСТ 8756.22-80 [16]. Все аналитические определения выполняли в трехкратной биологической повторности. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Excel.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследований установлено, что у двулетних (виргинильных) растений голубики сорта *Bluecrop* ассимилирующие органы примерно в 1,5–2,0 раза богаче, чем у сорта *Northland*, и зелеными, и желтыми пластидными пигментами. Для сравнения: суммарное содержание хлорофиллов в сухой массе листьев первого сорта варьировалось в рамках эксперимента в диапазоне от 325,2 до 380,8 мг на 100 г, в том числе хлорофилла *a* – от 229,2 до 261,0 мг, хлорофилла *b* – от 92,2 до 119,8 мг, а аналогичные диапазоны варьирования данных показателей в листьях второго сорта охватывали области более низких значений – соответственно 188,4–271,6; 136,7–178,1 и 48,8–96,5 мг/100 г сухой массы (табл. 1). Близкая этой картина на-

блюдалась і в каротиноідным комплексе асимилюючых органаў голубікі. Так, калі сумарнае змяшчэнне жоўтых пігментаў в сухом веществе лісьцяў сорта *Bluecrop* змянялось ад 110,8 да 118,2 мг на 100 г, в том числе β-каротина – ад 8,1 да 26,0 мг, ксантофіллов – ад 92,3 да 106,9 мг, то аналагічныя дыяпазоны варыравання даных паказатэляў в лісьцях сорта *Northland* складалі адпаведна 72,1–92,0; 4,5–11,1 і 65,3–159,6 мг/100 г. При этом производные характеристики пигментного фонда пластид – соотношения количества хлорофиллов *a* и *b*, хлорофиллов и каротиноидов – варыравалісь в лісьцях сорта *Bluecrop* в более узких, чем у сорта *Northland*, дыяпазонах – адпаведна 2,18–2,53 і 2,83–3,31 протів 1,82–2,97 і 1,64–3,13 при противоположной закономерности для соотношения количества β-каротина и ксантофіллов – адпаведна 0,08–0,28 і 0,04–0,16.

Таблица 1. Содержание фотосинтезирующих пигментов (мг/100 г сухой массы) в ассимилирующих органах модельных сортов *V. corymbosum* разного возраста в вариантах полевого опыта

Table 1. The content of photosynthesizing pigments (mg 100 g⁻¹ of dry mass) in the leafage of uneven-aged model cultivars of *V. corymbosum* in field experiment variants

Вариант опыта	Двухлетние растения									
	Сорт <i>Bluecrop</i>									
	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Хлорофилл <i>a + b</i>		<i>a/b</i>			
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>		
Контроль	261,0 ± 16,8		119,8 ± 8,5		380,8 ± 25,3		2,18 ± 0,02			
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	259,6 ± 3,1	-0,1	118,4 ± 9,9	-0,1	378,0 ± 12,9	-0,1	2,22 ± 0,15		0,3	
Наноплант	233,3 ± 5,9	-1,6	92,2 ± 3,6	-3,0*	325,5 ± 8,5	-2,9*	2,53 ± 0,04		9,0*	
Гидрогумат	229,2 ± 3,4	-2,8*	96,0 ± 0,7	-2,8*	325,2 ± 5,8	-2,8*	2,39 ± 0,09		2,3	
Экосил	241,5 ± 1,4	-1,2	104,6 ± 4,1	-1,6	346,0 ± 2,8	-1,4	2,32 ± 0,10		1,3	
Вариант опыта	Каротиноиды								Хлорофиллы/каротиноиды	
	суммарное содержание		β-каротин		ксантофиллы		β-каротин/ксантофиллы			
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>
	Контроль	115,1 ± 8,5		17,5 ± 0,2		97,5 ± 8,5		0,18 ± 0,02		3,31 ± 0,05
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	118,2 ± 5,6	0,3	26,0 ± 0,5	14,2*	92,3 ± 2,1	-2,8*	0,28 ± 0,01	5,5*	3,20 ± 0,06	-1,5
Наноплант	110,8 ± 1,9	-0,5	15,9 ± 0,4	-3,8*	95,0 ± 1,5	-0,3	0,17 ± 0,01	-1,0	2,94 ± 0,04	-6,3*
Гидрогумат	114,9 ± 4,9	-0,1	18,6 ± 0,3	2,8*	96,4 ± 4,6	-0,1	0,19 ± 0,01	0,6	2,83 ± 0,07	-5,9*
Экосил	115,0 ± 3,1	0	8,1 ± 0,2	-33,1*	106,9 ± 1,3	3,0*	0,08 ± 0,01	-6,6*	3,01 ± 0,06	-4,0*
Вариант опыта	Сорт <i>Northland</i>									
	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Хлорофилл <i>a + b</i>		<i>a/b</i>			
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>		
	Контроль	145,0 ± 1,6		48,8 ± 0,8		193,7 ± 2,4		2,97 ± 0,02		
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	175,1 ± 0,7	17,6*	96,5 ± 1,4	29,1*	271,6 ± 2,1	24,4*	1,82 ± 0,02		-42,4*	
Наноплант	136,7 ± 1,5	-3,8*	51,7 ± 1,6	1,6	188,4 ± 3,0	-1,4	2,65 ± 0,05		-5,8*	
Гидрогумат	164,7 ± 6,9	2,9*	71,9 ± 2,5	8,8*	236,6 ± 4,6	8,3*	2,30 ± 0,18		-3,7*	
Экосил	178,1 ± 2,0	12,8*	84,6 ± 1,0	26,8*	262,7 ± 3,1	17,6*	2,11 ± 0,01		-45,5*	
Вариант опыта	Каротиноиды								Хлорофиллы/каротиноиды	
	суммарное содержание		β-каротин		ксантофиллы		β-каротин/ксантофиллы			
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>
	Контроль	72,1 ± 2,6		4,5 ± 0,2		67,6 ± 2,7		0,07 ± 0,01		2,70 ± 0,13
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	165,7 ± 2,1	28,5*	6,1 ± 0,2	7,4*	159,6 ± 1,9	27,8*	0,04 ± 0,01	-5,7*	1,64 ± 0,03	-7,9*
Наноплант	77,6 ± 0,5	2,9*	9,8 ± 0,1	25,5*	67,8 ± 9,7	0	0,15 ± 0,02	3,4*	2,51 ± 0,35	-0,5
Гидрогумат	75,6 ± 0,9	1,3	10,3 ± 0,5	10,6*	65,3 ± 0,4	-0,8	0,16 ± 0,01	10,5*	3,13 ± 0,02	3,3*
Экосил	92,0 ± 0,4	7,7*	11,1 ± 0,3	18,6*	80,9 ± 0,1	4,9*	0,14 ± 0,01	11,3*	2,85 ± 0,02	1,2

Вариант опыта	Четырехлетние растения									
	Сорт <i>Bluecrop</i>									
	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Хлорофилл <i>a + b</i>		<i>a/b</i>			
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>
Контроль	366,5 ± 2,9		161,4 ± 4,7		527,9 ± 3,7		2,28 ± 0,08			
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	374,1 ± 2,4	2,0	139,9 ± 3,4	-3,7*	514,0 ± 1,4	-3,5*	2,68 ± 0,08		3,5*	
Наноплант	280,5 ± 1,1	-27,2*	115,5 ± 3,1	-8,1*	396,0 ± 4,2	-23,3*	2,43 ± 0,06		1,6	
Гидрогумат	387,5 ± 2,4	5,5*	148,9 ± 2,5	-2,8*	536,4 ± 3,4	1,7	2,60 ± 0,06		3,4*	
Экосил	334,6 ± 0,5	-10,7*	143,7 ± 3,6	-3,0*	478,3 ± 4,1	-9,0*	2,33 ± 0,05		0,6	
Вариант опыта	Каротиноиды									
	суммарное содержание		β-каротин		суммарное содержание		β-каротин		Хлорофиллы/каротиноиды	
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>
	Контроль	129,8 ± 4,1		8,4 ± 0,2		121,5 ± 3,9		0,07 ± 0,01		4,08 ± 0,15
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	144,7 ± 1,5	3,4*	45,5 ± 0,3	106,0*	99,3 ± 1,6	-5,3*	0,46 ± 0,01	47,2*	3,55 ± 0,04	-3,4*
Наноплант	110,2 ± 0,8	-4,7*	40,3 ± 0,2	121,9*	69,9 ± 0,9	-13,0*	0,58 ± 0,01	54,4*	3,59 ± 0,03	-3,1*
Гидрогумат	156,1 ± 1,4	6,1*	49,3 ± 0,1	178,6*	106,8 ± 1,3	-3,6*	0,46 ± 0,01	72,0*	3,44 ± 0,05	-4,0*
Экосил	145,2 ± 2,0	3,4*	27,3 ± 0,3	56,9*	118,0 ± 2,3	-0,8	0,23 ± 0,01	24,9*	3,30 ± 0,06	-4,8*
Вариант опыта	Сорт <i>Northland</i>									
	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Хлорофиллы <i>a + b</i>		<i>a/b</i>			
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>
	Контроль	377,8 ± 1,1		118,2 ± 1,1		495,9 ± 1,7		3,20 ± 0,03		
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	312,1 ± 0,5	-53,2*	181,3 ± 2,5	23,4*	493,4 ± 2,7	-0,8	1,72 ± 0,02		-40,2*	
Наноплант	259,9 ± 1,3	-66,6*	97,2 ± 2,6	-7,5*	357,1 ± 3,1	-39,5*	2,68 ± 0,07		-6,9*	
Гидрогумат	286,9 ± 1,2	-54,0*	124,3 ± 1,1	3,9*	411,3 ± 1,3	-39,2*	2,31 ± 0,03		-22,3*	
Экосил	254,2 ± 1,2	-74,8*	97,2 ± 1,6	-10,7*	351,4 ± 2,2	-51,5*	2,62 ± 0,04		-11,1*	
Вариант опыта	Каротиноиды									
	суммарное содержание		β-каротин		суммарное содержание		β-каротин		Хлорофиллы/каротиноиды	
	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>	$\bar{x} \pm s_x$	<i>t</i>
	Контроль	148,1 ± 1,1		4,2 ± 0,2		143,9 ± 1,1		0,03 ± 0,01		3,35 ± 0,04
N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	152,1 ± 0,7	3,1*	19,6 ± 0,3	43,5*	132,5 ± 0,8	-8,5*	0,15 ± 0,01	38,1*	3,24 ± 0,01	-2,9*
Наноплант	98,5 ± 0,4	-42,0*	38,9 ± 0,2	118,2*	59,6 ± 0,6	-68,8*	0,65 ± 0,01	61,1*	3,63 ± 0,04	5,3*
Гидрогумат	127,9 ± 0,7	-15,4*	28,1 ± 0,3	73,5*	99,8 ± 0,8	-32,5*	0,28 ± 0,01	53,7*	3,22 ± 0,02	-3,2*
Экосил	109,5 ± 0,3	-33,1*	26,6 ± 0,2	90,8*	82,8 ± 0,5	-52,1*	0,32 ± 0,01	75,4*	3,21 ± 0,03	-3,0*

Примечание. * – статистически значимые по *t*-критерию Стьюдента различия с контролем при $p < 0,05$.

Сравнение исследуемых показателей в контроле и в вариантах опыта с внесением удобрений выявило существенные генотипические и межвариантные различия в характере и степени ответной реакции растений голубики на используемые агроприемы. Как следует из табл. 2, у сорта *Bluecrop* она была менее выраженной, чем у сорта *Northland*. Так, в первом случае ни внесение полного минерального удобрения, ни обработка растений препаратом Экосил не оказали достоверного влияния на общее содержание в листьях и зеленых, и желтых пластидных пигментов. Использование же препаратов Наноплант и Гидрогумат хотя и не повлияло на накопление каротиноидов, но в то же время обусловило сходное по величине снижение (на 14–15 % по сравнению с контролем) содержания хлорофиллов. При этом на фоне обработок растений Наноплантом данный эффект был обусловлен исключительно ингибированием биосинтеза хлорофилла *b*, тогда как при внесении Гидрогумата наблюдалось обеднение листьев данного сорта уже обоими типами зеленых пигментов.

Таблица 2. Относительные различия с контролем в содержании фотосинтезирующих пигментов в ассимилирующих органах модельных сортов *V. corymbosum* разного возраста в вариантах полевого опыта, %Table 2. Relative differences with the control of the the content of photosynthesizing pigments in the leafage of uneven-aged model cultivars of *V. corymbosum* in field experiment variants, %

Сорт	Вариант опыта	Хлорофиллы				Каротиноиды				Хлорофиллы/каротиноиды	Совокупный эффект	Соотношение позитивного и негативного влияния
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>	<i>a/b</i>	суммарное содержание	β-каротин	ксантофиллы	β-каротин/ксантофиллы			
Двулетние растения												
<i>Bluecrop</i>	N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	–	–	–	–	–	+48,6	–5,3	+55,6	–	+43,3	9,2
	Наноплант	–	–23,0	–14,5	+16,1	–	–9,1	–	–	–11,2	–46,6	0
	Гидрогумат	–12,2	–19,9	–14,6	–	–	+6,3	–	–	–14,5	–40,4	0,1
	Экосил	–	–	–	–	–	–53,7	+9,6	–55,6	–9,1	–44,1	0,2
<i>Northland</i>	N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	+20,8	+97,7	+40,2	–38,7	+129,8	+35,6	+136,1	–42,9	–39,3	+460,2	460,2
	Наноплант	–5,7	–	–	–10,8	+7,6	+117,8	–	+114,3	–	+119,7	22,0
	Гидрогумат	+13,6	+47,3	+22,1	–22,6	–	+128,9	–	+128,6	+15,9	+211,9	211,9
	Экосил	+22,8	+73,4	+35,6	–29,0	+27,6	+146,7	+19,7	+100,0	–	+325,8	325,8
Четырехлетние растения												
<i>Bluecrop</i>	N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	–	–13,3	–2,6	+17,5	+11,5	+441,7	–18,3	+557,1	–13,0	+419,0	13,3
	Наноплант	–23,5	–28,4	–25,0	–	–15,1	+379,8	–42,5	+728,6	–12,0	+245,3	2,8
	Гидрогумат	+5,7	–7,7	–	+14,0	+20,3	+486,9	–12,1	+557,1	–15,7	+493,1	25,9
	Экосил	–8,7	–11,0	–9,4	–	+11,9	+225,0	–	+228,6	–19,1	+207,8	8,1
<i>Northland</i>	N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	–17,4	+53,4	–	–46,3	+2,7	+366,7	–7,9	+400,0	–3,3	+397,5	16,7
	Наноплант	–31,2	–17,8	–28,0	–16,3	–33,5	+826,2	–58,6	+2066,7	+8,4	+657,1	4,9
	Гидрогумат	–24,1	+5,2	–17,1	–27,8	–13,6	+569,0	–30,6	+833,3	–3,9	+488,8	6,7
	Экосил	–32,7	–17,8	–29,1	–18,1	–26,1	+533,3	–42,5	+966,7	–4,2	+385,1	3,6

Примечание. Прочерк (–) означает отсутствие статистически значимых по *t*-критерию Стьюдента различий с контролем при $p < 0,05$.

Отметим, что ни в одном варианте полевого опыта с внесением удобрений и стимуляторов роста у сорта *Bluecrop* не выявлено достоверных изменений в суммарном содержании желтых пигментов по сравнению с контролем. Вместе с тем в составе самого каротиноидного комплекса отмечены статистически выраженные сдвиги, заключавшиеся в активизации накопления β-каротина почти на 50 % при обеднении их ксантофиллами на 5 % на фоне внесения полного минерального удобрения, а также незначительное обогащение (на 6–7 %) β-каротином при внесении Гидрогумата. Некорневые обработки растений Наноплантом и Экосилом оказали противоположное действие на содержание в листьях β-каротина, проявившееся в его снижении относительно контроля на 9 и 54 % соответственно, что сопровождалось во втором случае усилением накопления ксантофиллов почти на 10 %. Показанные выше изменения в пигментном комплексе пластид под действием используемых агроприемов обусловили достоверное снижение в большинстве вариантов опыта соотношения содержания хлорофиллов и каротиноидов на 9–15 %, что свидетельствовало об определенном ослаблении роли зеленых пигментов.

В отличие от сорта *Bluecrop*, для сорта *Northland* во всех вариантах опыта с применением удобрений и стимуляторов роста, за исключением варианта с использованием Нанопланта, наблюдалась выраженная активизация в ассимилирующих органах биосинтеза обоих типов хлорофилла, особенно хлорофилла *b*, что подтверждалось достоверным увеличением его содержания по сравнению с контролем на 47–98 % при увеличении содержания хлорофилла *a* лишь на 14–23 % (табл. 2). При этом относительное увеличение суммарного содержания зеленых пигментов в обозначенных вариантах опыта составляло 22–40 %. Наиболее отчетливо это проявилось на фоне обработок Экосилом и в большей степени при внесении полного минерального удобрения. Вместе с тем обработка растений Наноплантом практически не повлияла на содержание в листьях зеленых пигментов, поскольку незначительное снижение в них (не более чем на 5–6 % относительно

контроля) количества хлорофилла *a* не вызвало заметных изменений в общем содержании последних. В результате более выраженной активизации накопления в листьях хлорофилла *b*, нежели хлорофилла *a*, имело место достоверное снижение соотношения их количества на 11–39 % по сравнению с контролем.

Известно, что активность фотосинтетического аппарата растений тесно связана с содержанием азота и что количество хлорофилла является надежным критерием доступности почвенного азота для растений. Так, изучение влияния азотных удобрений на фотосинтетический аппарат озимой пшеницы показало заметное повышение общего содержания пластидных пигментов с увеличением возраста растений, особенно при их внесении в высоких дозах [17]. При этом увеличение содержания пигментов в процессе роста растений пшеницы прямо коррелировало с усилением биосинтеза дисахаридов (сахарозы и мальтозы). Аналогичные результаты получены также на растениях риса, бобов, фруктовых деревьев и камелии китайской [18].

Однако исследование Li Xiaoyan с соавт. [19] влияния 4-кратного внесения возрастающих доз азотных (14, 28, 42, 56 г/раст.), фосфорных (7, 14, 21, 28 г/раст.) и калийных (7, 14, 21, 28 г/раст.) удобрений на растения голубики сорта *Bluecrop* не выявило заметного позитивного влияния ни на массу плодов, ни на содержание в листьях хлорофиллов и скорость нетто-фотосинтеза. При этом следует отметить, что исследования влияния удобрений на фотосинтетический аппарат растений голубики крайне малочисленны. На выраженную видо- и сортоспецифичность в характере ответной реакции вересковых на применение азотфиксирующего, фосфатмобилизующего и ростстимулирующего изолятов микроорганизмов при адаптации клонированного посадочного материала *ex vitro*, а также на существенную активизацию при этом биосинтеза хлорофиллов в его листовой ткани указано в работе О. В. Чижик с соавт. [20].

В наших исследованиях в обоих вариантах опыта, где отмечалось наибольшее позитивное влияние на накопление в листьях зеленых пластидных пигментов ($N_{16}P_{16}K_{16}$, Экосил), также имела место существенная активизация биосинтеза желтых пигментов, на что указывало увеличение их общего содержания соответственно на 130 и 28 % по сравнению с контролем. При этом более интенсивное накопление каротиноидов, нежели хлорофиллов, на фоне применения $N_{16}P_{16}K_{16}$ обусловило снижение соотношения количеств данных пигментов почти на 40 % по сравнению с агрофоном без внесения удобрений, тогда как активизация биосинтеза зеленых пигментов при отсутствии изменений в содержании желтых пигментов на фоне внесения Гидрогумата привела к увеличению данного соотношения на 16 %. В отличие от сорта *Bluecrop*, у сорта *Northland* отмечались более значительные изменения в составе каротиноидного комплекса ассимилирующих органов, заключавшиеся в увеличении содержания β -каротина во всех вариантах опыта на 36–147 % по сравнению с контролем при одновременной активизации накопления в них ксантофиллов на фоне внесения $N_{16}P_{16}K_{16}$ и некорневых обработок Экосилом – на 136 и 20 % соответственно. При этом различия темпов биосинтеза восстановленной и окисленной форм каротиноидов обусловили в большинстве вариантов опыта увеличение соотношения их количеств на 100–129 % относительно контроля, и лишь при внесении полного минерального удобрения, напротив, отмечалось его снижение на 43 % (табл. 2).

Таким образом, установлена выраженная видо- и сортоспецифичность в формировании пигментного фонда пластид ассимилирующих органов голубики на фоне внесения удобрений. На наш взгляд, выявленные сортовые различия в характере ответной реакции двулетних растений на используемые нами агроприемы обусловлены особенностями их генотипа, поскольку сорт *Bluecrop* является представителем вида *V. corymbosum*, тогда как сорт *Northland* – межвидовой гибрид *V. corymbosum* \times *V. angustifolium*. В наших предыдущих исследованиях на торфяной выработке верхового типа в Припятском Полесье с применением рострегулирующих препаратов Элегум-комплекс, КомплеМет, Сок Земли и Альбит в опытной культуре с *V. angustifolium*, межвидовым гибридом *Northcountry* и сортом *Elizabeth V. corymbosum* также была установлена выраженная сорто- и видоспецифичность в направленности и степени влияния препаратов на формирование текущего прироста вегетативных органов растений [21].

Несмотря на указанные выше сортовые различия в пигментном комплексе пластид ассимилирующих органов, наиболее щадящее действие на его формирование у сорта *Bluecrop* и наибольшее

стимулирующее влияние на накопление хлорофиллов и каротиноидов у сорта *Northland* установлено при некорневых обработках Экосилом и особенно при внесении полного минерального удобрения.

Логично предположить, что ответная реакция голубики на испытываемые агроприемы в плане формирования пигментного фонда пластид у виргинильных и генеративных растений может различаться. Как следует из табл. 1, вступившие в генеративный период развития четырехлетние растения характеризовались более высоким, чем двулетние, общим содержанием зеленых пластидных пигментов в ассимилирующих органах, варьировавшимся в их сухой массе в рамках эксперимента у сорта *Bluecrop* в диапазоне от 396,0 до 536,4 мг на 100 г, в том числе хлорофилла *a* – от 280,5 до 387,5 мг, хлорофилла *b* – от 115,5 до 161,4 мг. Аналогичные диапазоны варьирования у сорта *Northland*, как и у двулетних растений, охватывали области более низких значений – соответственно 351,4–495,9; 254,2–377,8 и 97,2–181,3 мг/100 г. Заметим, что у четырехлетних растений голубики суммарное содержание в листьях желтых пигментов, как и зеленых, было выше, чем у двулетних растений, и составляло в сухом веществе у сорта *Bluecrop* 110,2–156,1 мг на 100 г, в том числе β -каротина – 8,4–49,3 мг, ксантофиллов – 69,9–121,5 мг. У сорта *Northland* содержание в листьях данных соединений несколько уступало таковому у сорта *Bluecrop* при диапазонах варьирования в рамках эксперимента соответственно 98,5–152,1; 4,2–38,9 и 59,6–143,9 мг/100 г сухой массы.

Вместе с тем, как и у виргинильных растений голубики, у генеративных растений в ответ на применяемые агроприемы отчетливо прослеживались сортовые различия при более выраженном характере выявленных эффектов у сорта *Northland* (табл. 2). У обоих сортов голубики применение удобрений и ростовых стимуляторов в большинстве случаев способствовало подавлению биосинтеза зеленых пигментов, на что указывало достоверное снижение по сравнению с контролем их суммарного содержания в листьях (у сорта *Bluecrop* – на 3–25 %, у сорта *Northland* – на 17–29 %) при наименьших различиях и даже их отсутствии на фоне внесения полного минерального удобрения, а у первого сорта также при использовании Гидрогумата. Обработка растений Наноплантом и Экосилом способствовала пропорциональному обеднению листьев сорта *Bluecrop* обоими типами хлорофиллов, что подтверждалось сопоставимостью с контролем соотношения их количеств. В вариантах же с внесением $N_{16}P_{16}K_{16}$ и Гидрогумата имело место ингибирование биосинтеза только хлорофилла *b* на 13 и 8 % при отсутствии изменений в содержании хлорофилла *a* в первом случае и его достоверном увеличении на 6 % во втором, что обусловило сдвиги в соотношении количеств данных пигментов в сторону увеличения на 18 и 14 % соответственно по сравнению с контролем.

Что касается сорта *Northland*, то на фоне применения Нанопланта и Экосила идентичное по величине (на 28–29 %) снижение в его листьях общего количества зеленых пигментов относительно контроля в большей степени было связано с подавлением биосинтеза хлорофилла *a*, нежели хлорофилла *b*. При этом в вариантах опыта с внесением Гидрогумата и особенно $N_{16}P_{16}K_{16}$ обеднение листовой ткани хлорофиллом *a* сопровождалось ее заметным обогащением хлорофиллом *b* (табл. 2). Разумеется, выявленные межвариантные различия в формировании фонда зеленых пигментов отразились на размерах снижения по сравнению с контролем соотношений в нем хлорофиллов *a* и *b*.

Следует отметить, что только у сорта *Northland* ингибирующее влияние большинства агроприемов на биосинтез хлорофиллов в листьях модельных сортов голубики сочеталось с ослаблением накопления в них каротиноидов на 14–34 % по сравнению с контролем. При этом лишь в варианте опыта с внесением $N_{16}P_{16}K_{16}$, в котором не установлено изменений в общем количестве зеленых пигментов, имело место крайне незначительное (в пределах 2–3 %), но все же достоверное увеличение в них общего содержания желтых пигментов. В отличие от данного сорта, для сорта *Bluecrop* в большинстве вариантов опыта с применением удобрений и стимуляторов роста наблюдалась противоположная картина, указывающая не на ослабление, а, напротив, на усиление накопления последних на 12–20 % по сравнению с контролем, и только при обработке Наноплантом отмечено снижение их содержания на 15 % (табл. 2). Различия темпов биосинтеза зеленых и желтых пластидных пигментов в листовой ткани модельных сортов голубики на фоне

испытываемых агроприемов нашли отражение в более выраженном снижении относительно контроля соотношения их количеств у сорта *Bluecrop* по сравнению с сортом *Northland*.

Известно, что у разных таксонов растений состав каротиноидов весьма однороден и включает как восстановленные углеводороды – α - и β -каротины (одну четверть от общего содержания желтых пигментов), так и их окисленные производные, называемые ксантофиллами. Последние представлены β , ϵ -ксантофиллами – лютеином (наиболее распространенным каротиноидом) и β , β -ксантофиллами – виолаксантином, неоксантином, антраксантином и зеаксантином, биосинтез которых строго контролируется в процессе адаптации растений к стрессовым условиям [22].

В наших исследованиях, несмотря на обозначенные выше сортовые различия в изменении общего содержания желтых пигментов в листьях голубики под действием испытываемых агроприемов, у обоих модельных сортов установлено выраженное сходство в трансформации каротиноидного комплекса пластид в вариантах опыта с применением удобрений. Оно заключалось в значительном увеличении по сравнению с контролем содержания в листовой ткани β -каротина (на 225–487 % у сорта *Bluecrop* и на 367–826 % у сорта *Northland*) на фоне ее обеднения ксантофиллами – соответственно на 12–43 и 8–59 %. Заметим, что активизация биосинтеза в ней восстановленной формы желтых пигментов при использовании удобрений и стимуляторов роста носила здесь более выраженный характер, чем у двулетних растений, но, как и у них, наиболее отчетливо она проявилась у сорта *Northland*. При этом усиление накопления β -каротина при ослаблении биосинтеза ксантофиллов обусловило чрезвычайно выраженное увеличение сдвигов в соотношении данных форм желтых пигментов, особенно на фоне обработки растений Наноплантом (табл. 2).

Для понимания установленных закономерностей в изменении состава каротиноидного комплекса пластид листьев голубики следует учитывать, что каротины и их окисленные производные ксантофиллы являются структурными компонентами двух фотосистем (ФС) фотосинтеза – I и II. Они входят в состав и стабилизируют хлорофилл-белковые комплексы ФС, повышая их светособирающую способность, и играют важную роль в защите хлоропластов от фотоповреждений. Локализация каротиноидов в пигмент-белковых комплексах ФС очень консервативна: коровый комплекс (core-complex) содержит каротины, тогда как периферический светособирающий комплекс (light-harvesting complex) содержит ксантофиллы. Каротиноиды защищают хлоропласт от фотодеструкции путем диссипации поглощенной энергии света и прямой дезактивации триплетного хлорофилла ($^3\text{Chl}^*$) или активных форм кислорода, образующихся в процессе фотосинтеза [23, 24]. Исходя из этих представлений, выявленные изменения в общем содержании каротиноидов в листьях голубики, равно как и увеличение количества β -каротина на фоне снижения содержания ксантофиллов при применении удобрений и стимуляторов роста, на наш взгляд, могут свидетельствовать об адаптивных изменениях в структуре пигмент-белковых комплексов фотосинтетических мембран в пользу реакционных центров ФС фотосинтеза, что, тем не менее, требует проведения специальных исследований.

Таким образом, испытываемые агроприемы оказали неоднозначное влияние на основные характеристики фонда фотосинтезирующих пигментов у виргинильных и генеративных растений голубики при разной степени их воздействия на исследуемые показатели. С целью выявления варианта опыта с максимальной и минимальной степенью данного воздействия в каждом из них были определены суммарные значения относительных размеров положительных и отрицательных отклонений общего содержания хлорофиллов и каротиноидов от контроля, а также основных типов этих пигментов, что позволило установить совокупный стимулирующий либо ингибирующий эффект от применения удобрений. Соотношение же относительных величин данных эффектов позволило выявить агроприем с наиболее выраженным позитивным влиянием на пигментный фонд модельных сортов голубики.

Как следует из табл. 2, у двулетних растений интегральное стимулирующее действие удобрений и ростовых стимуляторов на формирование пигментного фонда ассимилирующих органов проявилось только у сорта *Northland*. Наиболее эффективным следует признать внесение $\text{N}_{16}\text{P}_{16}\text{K}_{16}$, наименее эффективным – некорневые обработки Наноплантом. При этом степень позитивного влияния данных агроприемов на содержание фотосинтезирующих пигментов в листьях

этого сорта различалась в 20,9 раза. Эффективность применения Экосила и Гидрогумата была ниже, чем в варианте с $N_{16}P_{16}K_{16}$, в 1,4 и 2,2 раза соответственно. Что касается сорта *Bluecrop*, то незначительное позитивное влияние на содержание в листьях пластидных пигментов оказало только внесение $N_{16}P_{16}K_{16}$ при абсолютном доминировании ингибирующего воздействия на него остальных испытываемых агроприемов.

У плодоносящих растений четырехлетнего возраста наблюдалась иная картина, свидетельствующая о заметном нивелировании сортовых различий в степени восприимчивости пигментного фонда пластид к удобрениям и ростовым стимуляторам. Следует отметить, что, в отличие от двулетних растений, за счет более выраженной активизации биосинтеза в листьях β -каротина под действием последних, совокупный эффект во всех вариантах опыта у обоих сортов голубики имел исключительно положительную направленность. При этом наибольшие позитивные изменения в содержании фотосинтезирующих пигментов установлены у сорта *Bluecrop* при внесении $N_{16}P_{16}K_{16}$ и особенно Гидрогумата, эффект от которого был почти вдвое выше, тогда как наименьшие – при некорневых обработках Наноплантом, уступавшем по эффективности наиболее успешным вариантам опыта в 4,8 и 9,3 раза соответственно. У сорта *Northland*, как и у сорта *Bluecrop*, наиболее выраженное позитивное влияние на пигментный фонд ассимилирующих органов установлено также на фоне внесения $N_{16}P_{16}K_{16}$ и Гидрогумата, однако полученный эффект во втором случае оказался, напротив, в 2,5 раза ниже, чем в первом. При этом наименее результативным следовало признать применение Экосила, эффективность которого уступала таковой в наиболее успешных вариантах опыта соответственно в 4,6 и 1,9 раза.

Заключение. Сравнительное исследование влияния удобрений и ростовых стимуляторов на основные характеристики пигментного фонда ассимилирующих органов дву- и четырехлетних (виргинильных и генеративных) растений двух модельных сортов *V. corymbosum* – *Bluecrop* и *Northland* выявило существенные генотипические, возрастные и межвариантные различия в характере и степени ответной реакции растений на испытываемые агроприемы. Показано, что генеративные растения голубики характеризуются более высоким содержанием в листовой ткани фотосинтезирующих пигментов, нежели виргинильные, на фоне неоднозначных тенденций в изменении темпов их накопления под действием агроприемов, использование которых привело к существенным сдвигам в составе каротиноидного комплекса пластид, обусловленным чрезвычайно выраженной активизацией биосинтеза β -каротина при деградации ксантофиллов, усиливающейся с увеличением возраста растений, особенно у сорта *Northland*, что косвенно свидетельствует об адаптивных изменениях структуры пигмент-белковых комплексов фотосинтетических мембран в пользу реакционных центров ФС фотосинтеза.

У виргинильных растений интегральное стимулирующее действие удобрений и стимуляторов роста на формирование пигментного фонда пластид проявилось только у сорта *Northland* при наибольшей эффективности внесения $N_{16}P_{16}K_{16}$ и наименьшей – при обработке Наноплантом, при различиях степени позитивного влияния в 20,9 раза. Эффективность применения Экосила и Гидрогумата уступала таковой $N_{16}P_{16}K_{16}$ в 1,4 и 2,2 раза соответственно. У сорта *Bluecrop* незначительное позитивное влияние на содержание в листьях пластидных пигментов установлено только на фоне $N_{16}P_{16}K_{16}$ при абсолютном доминировании ингибирующего воздействия на него остальных агроприемов. У растений, достигших половой зрелости, установлено существенное нивелирование сортовых различий в степени восприимчивости пигментного фонда пластид к использованию удобрений. В отличие от виргинильных растений, за счет более выраженной у них активизации биосинтеза β -каротина, совокупный эффект у обоих сортов голубики на удобренном агрофоне имел исключительно положительную направленность. Наиболее значительные позитивные изменения темпов накопления фотосинтезирующих пигментов у обоих сортов обеспечивало внесение $N_{16}P_{16}K_{16}$ и Гидрогумата, тогда как наименьшие отмечены после обработки Наноплантом (у сорта *Bluecrop*) и Экосилом (у сорта *Northland*).

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б17-045).

Acknowledgements. The work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (grant B17-045).

Список использованных источников

1. Влияние биологически активных препаратов на урожайность и биохимический состав овощей / В. Ф. Степуро [и др.] // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. Акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2010. – Вып. 18. – С. 187–191.
2. Азизбекян, С. Г. Наноплант – новое отечественное микроудобрение / С. Г. Азизбекян, В. И. Домаш // Наше сел. хоз-во. Агрономия. – 2015. – № 7. – С. 68–72.
3. Наноплант – белорусский «эликсир урожайности» / С. Азизбекян [и др.] // Белорус. сел. хоз-во. – 2015. – № 3. – С. 58–59.
4. Экологобезопасные биологически активные препараты для сельского хозяйства, разработанные на основе торфа и отходов растительного сырья / Г. В. Наумова [и др.] // Проблемы региональной экологии. – 2006. – № 4. – С. 52–56.
5. Экосил [Электронный ресурс] / Торгово-производств. част. унитар. предприятие «БелУниверсалПродукт». – Режим доступа : <https://ecosil.by>. – Дата доступа : 25.09.2017.
6. Томсон, А. Э. Торф и продукты его переработки / А. Э. Томсон, Г. В. Наумова. – Минск : Беларус. навука, 2009. – 328 с.
7. Шабанов, А. А. Биоорганические препараты Гидрогумат и Экосил – полезные компоненты в органическом земледелии [Электронный ресурс] / А. А. Шабанов, Ч. А. Романовский // Экосил / Торгово-производств. част. унитар. предприятие «БелУниверсалПродукт». – Режим доступа : <https://ecosil.by/a27989-ekologicheskoe-zemledelie-gostoregulyatory.html>. – Дата доступа : 02.10.2015.
8. Думбров, С. И. Влияние биопрепаратов на продуктивность и качество зерна озимой пшеницы в условиях каштановых почв Волгоградской области : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.09 / С. И. Думбров ; Волгогр. гос. с.-х. акад. – Волгоград, 2008. – 23 с.
9. Фурманов, М. С. Отчет об эффективности применения комплексного удобрения «ФлорГумат» на полях Изобильненского филиала ФГУ «ГОССОРТКОМИССИЯ» Изобильненского района Ставропольского края / М. С. Фурманов. – Изобильный : [б. и.], 2004. – 4 с.
10. Эффективность применения микроудобрений «Наноплант – Co, Mn, Cu, Fe, Zn, Cr, Mo, Se» и «Наноплант-Аг» на голубике высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) / О. В. Дрозд [и др.] // Опыт и перспективы возделывания ягодных растений семейства Брусничные на территории Беларуси и сопредельных стран : материалы Междунар. науч.-практ. семинара, Минск, 18–19 июля 2017 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Центр. ботан. сад ; редкол. : В. В. Титок, Л. В. Гончарова, Н. Б. Павловский. – Минск, 2017. – С. 50–57.
11. Петров, Н. Ю. Влияние биостимуляторов на фотосинтетическую деятельность яровой пшеницы / Н. Ю. Петров, Н. В. Бердников, В. В. Чернышков // Изв. Нижневолж. агроуниверситет. комплекса: наука и высш. проф. образование. – 2008. – № 4 (12). – С. 26–31.
12. Свиридов, С. С. Особенности воздействия физиологически активных веществ на растения сахарной свеклы в зависимости от фона минерального питания: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.09 / С. С. Свиридов ; Всерос. науч.-исслед. ин-т сахар. свеклы и сахара. – Рамонь, 2009. – 21 с.
13. Влияние стимуляторов роста на основе пленкообразующих составов на побегообразовательную способность одревесневших черенков и неукорененных отводков яблони / А. В. Деревинский [и др.] // Изучение, охрана и использование биоразнообразия растений и животных: сб. науч. ст. преподавателей каф. ботаники и зоологии ф-та естественных наук Белорус. гос. ун-та им. М. Танка, посвящ. памяти д-ра биол. наук, проф. Бавтуго Г. А. / Белорус. гос. пед. ун-т ; ред. : Е. И. Бычкова, И. Э. Бученков, А. В. Хандогий. – Минск, 2009. – С. 29–31.
14. Годнев, Т. Н. Хлорофилл: его строение и образование в растении / Т. Н. Годнев. – Минск : Изд-во Акад. наук БССР, 1963. – 318 с.
15. Фотосинтез. Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / авт.-сост. Л. В. Кахнович. – Минск : Изд-во Белорус. гос. ун-та, 2003. – 88 с.
16. Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения каротина = Fruit and vegetable products. Methods for determination of carotene : ГОСТ 8756.22–80 (СТ СЭВ 6519–88) : введ. впервые : введ. с 01.01.81 до 01.01.96 (переизд. (сент. 1992 г.) с Изм. № 1, 2, утв. в июле 1985 г., нояб. 1989 г. (ИУС 10–85, 2–90)). – М. : Изд-во стандартов, 1992. – 6 с.
17. The effect of differential nitrogen fertilization on photosynthetic pigment and carbohydrate contents in the two winter wheat varieties / T. Tranavičienė [et al.] // Agronomy Research. – 2008. – Vol. 6, N 2. – P. 555–561.
18. Liu, Z. A. Using a chlorophyll meter to estimate tea leaf chlorophyll and nitrogen contents / Z. A. Liu, J. P. Yang, Z. C. Yang // J. of Soil Science and Plant Nutrition. – 2012. – Vol. 12, N 2. – P. 339–348.
19. Li, X. Physiological effects of nitrogen, phosphorus and potassium on blueberry «Bluecrop» / X. Li, J. Wei, Y. Li // Acta Horticulturae. – 2012. – Vol. 926. – P. 347–351.
20. Чижик, О. В. Влияние микроорганизмов на адаптацию клонированного посадочного материала древесно-кустарниковых видов рода *Vaccinium* / О. В. Чижик [и др.] // Физиология и биохимия культур. растений. – 2013. – Т. 45, № 3. – С. 254–259.
21. Возделывание голубики на торфяных выработках Припятского Полесья (физиолого-биохимические аспекты развития) / Ж. А. Рупасова [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 242 с.
22. Hirschberg, J. Carotenoid biosynthesis in flowering plants / J. Hirschberg // Current Opinion in Plant Biology. – 2001. – Vol. 4, N 3. – P. 210–218.
23. Navaux, M. Zeaxanthin has enhanced antioxidant capacity with respect to all other xanthophylls in arabidopsis leaves and functions independent of binding to PSII antennae / M. Navaux, L. Dall'Osto, R. Bassi // Plant Physiology. – 2007. – Vol. 145, N 4. – P. 1506–1520.
24. Reactive oxygen species and transcript analysis upon excess light treatment in wild-type *Arabidopsis thaliana* vs a photosensitive mutant lacking zeaxanthin and lutein / A. Alboresi [et al.] // BMC Plant Biology. – 2011. – Vol. 11, N 1. – P. 62.

References

- Stepuro M. F., Tomson A. E., Naumova G. V., Makarova N. L., Zhmakova N. A., Ovchinnikova T. F. Impact of biostimulant on productivity and biochemical composition of vegetables. *Ovoshchevodstvo: sbornik nauchnykh trudov* [Vegetable growing: a collection of scientific papers], 2010, vol. 18, pp. 187–191 (in Russian).
- Azizbekyan S. G., Domash V. I. Nanoplant – a new native microfertilizer. *Nashe sel'skoe khozyaistvo. Agronomiya* [Our agriculture. Agronomy], 2015, no. 7, pp. 68–72 (in Russian).
- Azizbekyan S., Domash V., Bruj I., Stepuro M. Nanoplant – belarusian “elixir productivity”. *Belorusskoe sel'skoje khozyaistvo* [Belarusian Agriculture], 2015, no. 3, pp. 58–59 (in Russian).
- Naumova G. V., Ovchinnikova T. F., Gorbunov A. K., Zhmakova N. A., Makarova N. L. Ecologically safe biologically active preparations for agriculture, developed on the basis of peat and waste of plant raw materials. *Problemy regional'noi ekologii* [Problems of regional ecology], 2006, no. 4, pp. 52–56 (in Russian).
- Ekosil*. Available at: <https://ecosil.by> (accessed 25.09.2017) (in Russian).
- Tomson A. E., Naumova G.V. *Peat and products of its processing*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2009. 328 p. (in Russian).
- Shabanov A. A., Romanovskii Ch. A. Bioorganic preparations Hydrohumate and Ekosil – useful components in organic farming. *Ekosil*. Available at: <https://ecosil.by/a27989-ekologicheskoe-zemledelie-rostoregulyatory.html> (accessed 02.10.2016) (in Russian).
- Dumbrov S. I. *Influence of biologies on the productivity and quality of winter wheat in conditions of chestnut soils in the Volgograd region*. Abstract of Ph. D. diss. Volgograd, 2008. 21 p. (in Russian).
- Furmanov M. S. *Report on the effectiveness of the application of complex fertilizer “FlorGumat” in the fields of the Izobilnensky branch of the Federal State Institution “Gosortkommissiya” of the Izobilnensky district, Stavropol Territory*. Izobilny, S. n., 2004. 4 p. (in Russian).
- Drozd O. V., Pavlovskii N. B., Lenkovets T. I., Azizbekyan S. G. Efficiency of application of microfertilizers “Nanoplant-Co, Mn, Cu, Fe, Zn, Cr, Mo, Se” and “Nanoplant-Ag” on highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Opyt i perspektivy vozdeleyaniya yagodnykh rastenii semeistva Brusnichnye na territorii Belarusi i sopedel'nykh stran: materialy Mezhdunarodnogo nauchno-prakticheskogo seminara (Minsk, 18–19 iyulya 2017)* [Experience and perspectives of cultivation of berry plants of the Cowberry family on the territory of Belarus and neighboring countries: materials of the International scientific and practical seminar (Minsk, July 18–19, 2017)]. Minsk, 2017, pp. 50–57 (in Russian).
- Petrov N. Yu., Berdnikov N. V., Chernyshkov V. V. Effect of biostimulants on the photosynthetic activity of spring wheat. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie* [News of the Nizhnevolzhsky agro-university complex: science and higher vocational education], 2008, no. 4 (12), pp. 26–31 (in Russian).
- Sviridov S. S. *Peculiarity of the effect of physiologically active substances on sugar beet plants, depending on the background of mineral nutrition*. Abstract of Ph. D. diss. Ramon, 2009. 21 p. (in Russian).
- Derevinskii A. V., Chopchits A. N., Pivovarov I. V., Budnik E. P., Kabashnikova L. F., Mazhul' V. M. Influence of growth stimulators on the basis of film-forming compositions on the shoot-forming ability of lignified cuttings and unbroken apple tree branches. *Izuchenie, okhrana i ispol'zovanie bioraznoobraziya rastenii i zhivotnykh: sbornik nauchnykh statei prepodavatelei kafedry botaniki i zoologii fakul'teta estestvoznaniya Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta im. M. Tanka, posvyashchennyi pamyati doktora biologicheskikh nauk, professora Bavtuto Galiny Antonovny* [Study, protection and use of plant and animal biodiversity: a collection of scientific articles of teachers of the Department of Botany and Zoology of the Faculty of Natural Sciences of the Belarusian State University. M. Tanka, dedicated to the memory of Doctor of biological sciences, Professor Galina Bavtuto Antonovna]. Minsk, 2009, pp. 29–31 (in Russian).
- Godnev T. N. *Chlorophyll, its structure and formation in a plant*. Minsk, Academy of Sciences of the Belorussian SSR Publ., 1963. 318 p. (in Russian).
- Kakhnovich L. V. *Photosynthesis. Methodical recommendations for laboratory studies, tasks for independent work and control of students' knowledge*. Minsk, Belarusian State University Publ., 2003. 88 p. (in Russian).
- State Standard 8756.22–80 *Fruit and vegetable products. Method for determination of carotene*. Moscow, Publishing house of standards, 1992. 6 p. (in Russian).
- Tranavičienė T., Urbonavičiūtė A., Samuolienė G., Duchovskis P., Vagusevičienė I., Sliesaravičius A. The effect of differential nitrogen fertilization on photosynthetic pigment and carbohydrate contents in the two winter wheat varieties. *Agronomy Research*, 2008, vol. 6, no. 2, pp. 555–561.
- Liu Z. A., Yang J. P., Yang Z. C. Using a chlorophyll meter to estimate tea leaf chlorophyll and nitrogen contents. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2012, vol. 12, no. 2, pp. 339–348. DOI: 10.4067/s0718-95162012000200013
- Li X., Wei J., Li Y. Physiological effects of nitrogen, phosphorus and potassium on blueberry «Bluecrop». *Acta Horticulturae*, 2012, vol. 926, pp. 347–351. DOI: 10.17660/actahortic.2012.926.48
- Chizhik O. V., Reshetnikov V. N., Filipenya V. L., Gorbatshevich V. I., Kartyzhova L. E., Aleschenkova Z. M. The microorganisms influence on adaptation of clonal planting stock of hardy-shrub species of *Vaccinium*. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii* [Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants], 2013, vol. 45, no. 3, pp. 254–259 (in Russian).
- Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Reshetnikov V. N., Lishtvan I. I., Vasilevskaya T. I., Krynskaya N. B. *Cultivation of blueberries on peat excavations of Pripyat' Polesseye*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016. 242 p. (in Russian).
- Hirschberg J. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2001, vol. 4, no. 3, pp. 210–218. DOI: 10.1016/s1369-5266(00)00163-1

23. Navaux M., Dall'Osto L., Bassi R. Zeaxanthin has enhanced antioxidant capacity with respect to all other xanthophylls in arabidopsis leaves and functions independent of binding to PSII antennae. *Plant Physiology*, 2007, vol. 145, no. 4, pp. 1506–1520. DOI: 10.1104/pp.107.108480

24. Alboresi A., Dall'Osto L., Aprile A., Carillo P., Roncaglia E., Cattivelli L., Bassi R. Reactive oxygen species and transcript analysis upon excess light treatment in wild-type. *Arabidopsis thaliana* vs a photosensitive mutant lacking zeaxanthin and lutein. *BMC Plant Biology*, 2011, vol. 11, no. 1, p. 62. DOI:10.1186/1471-2229-11-62

Информация об авторах

Рупасова Жанна Александровна – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: J.Rupasova@cbg.org.by.

Яковлев Александр Павлович – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: A.Yakovlev@cbg.org.by.

Савосько Ирина Валерьевна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь).

Кабашникова Людмила Федоровна – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kabashnikova@ibp.org.by.

Литшван Иван Иванович – академик, д-р техн. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт природопользования НАН Беларуси (ул. Скорины, 10, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gntpecology@mail.ru.

Information about the authors

Zhanna A. Rupasova – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: J.Rupasova@cbg.org.by.

Alexander P. Yakovlev – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: A.Yakovlev@cbg.org.by.

Irina V. Savosko – Junior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Lyudmila F. Kabashnikova – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kabashnikova@ibp.org.by.

Ivan I. Lishtvan – Academician, D. Sc. (Engineering), Professor, Chief researcher. Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus (10, F. Skoryna Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gntpecology@mail.ru.

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 577.3; 577.346

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-201-208

Поступила в редакцию 27.09.2017

Received 27.09.2017

Г. А. Залесская¹, В. М. Насек², Р. Д. Зильберман²

¹Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

РЕАКЦИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО И γ -ИЗЛУЧЕНИЯ

Аннотация. По реакции периферической крови экспериментальных животных (крыс линии Вистар) на комбинированное воздействие γ - и лазерного излучения изучено восстанавливающее действие последнего. Проведено 4 серии экспериментов, в каждой из которых все тело крыс однократно подвергали γ - излучению в дозе 3 Гр. Низкоинтенсивное лазерное воздействие осуществляли в виде надвенного лазерного облучения крови (НЛОК), отличавшегося в разных сериях экспериментов количеством процедур, плотностью лазерного излучения (6,25; 2,5; 1,25 Дж/см²) и последовательностью воздействия – до и после γ -облучения. Определяли концентрацию гемоглобина, гематокрит, количество эритроцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов. Наряду с изучением влияния лазерного излучения на изменения гематологических показателей анализировали также изменения активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и каталазы). Показано, что лазерное излучение стремится компенсировать действие γ -излучения, вызвавшего лейкопению и лимфопению. Выявлены существенные различия в индивидуальной радиочувствительности образцов крови отдельных животных. Для форменных элементов крови и ферментов антиоксидантной защиты продемонстрирована зависимость количественных изменений, вызванных лазерным и γ -излучением, от исходных показателей.

Ключевые слова: γ - и низкоинтенсивное лазерное излучение, восстанавливающее действие, гематологические показатели, супероксиддисмутазы, каталаза, спектры поглощения крови

Для цитирования: Залесская, Г. А. Реакция периферической крови экспериментальных животных на комбинированное воздействие низкоинтенсивного лазерного и γ -излучения / Г. А. Залесская, В. М. Насек, Р. Д. Зильберман // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 201–208. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-201-208

G. A. Zalesskaya¹, V. M. Nasek², R. D. Zilberman²

¹B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

THE REACTION OF PERIPHERAL BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS TO COMBINED EFFECTS OF LOW-INTENSITY LASER AND γ -RADIATION

Abstract. By the response of the peripheral blood of experimental Wistar rats to the combined action of γ and laser radiation, the radioprotective effect of laser radiation was studied. Four series of experiments were carried out, in each of which the whole body of rats was irradiated once with γ -radiation (dose 3 Gy). Low-intensity laser exposure was performed in the form of blood overvein irradiation (NLOK), which differed in the different series of experiments by the number of procedures, the laser radiation density (6.25 J/cm², 2.5 J/cm², 1.25 J/cm²) and the exposure sequence: before and after γ -irradiation. The concentration of hemoglobin, hematocrit, the number of erythrocytes, leukocytes, lymphocytes, platelets were determined. Along with the study of the effect of laser radiation on the radiation changes in hematological parameters, changes were also analyzed: the activity of antioxidant defense enzymes (superoxide dismutase and catalase). It is shown that laser radiation tends to compensate the effect of γ -radiation, which caused leukopenia and lymphopenia. Significant differences in the individual radio sensitivity of blood samples of individual rats were revealed. For blood constituents and antioxidant defense enzymes, it was demonstrated the dependence of the quantitative changes caused by laser and γ -radiation on the initial indices.

Keywords: γ - and low-intensity laser radiation, radio protective action, hematological indices, superoxide dismutase, catalase, blood absorption spectra

For citation. Zalesskaya G. A., Nasek V. M., Zilberman R. D. The reaction of peripheral blood of experimental animals to combined effects of low-intensity laser and γ -radiation. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 201–208 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-201-208

Введение. В результате многолетнего изучения влияния нелетальных доз ионизирующей радиации (ИР) на организм человека выявлены особенности ее патологического действия на различные органы, а также на кожные покровы, слизистые оболочки и кровь [1]. Изучением радиационной стойкости крови, которая является одной из основных систем, обеспечивающих гомеостатические параметры организма, занимаются специалисты различных областей науки. На основе полученных данных установлено наличие сложной зависимости радиационных поражений компонент крови при использовании ИР в промышленности и медицине от таких факторов, как тип клеток, вид радиации, доза ИР, мощность дозы, время инкубации после облучения и др. [1, 2]. До настоящего времени многие экспериментальные факты, полученные при облучении крови *in vitro* и *in vivo*, не имеют строгого теоретического обоснования, что препятствует как определению безопасных режимов использования ИР, так и разработке эффективных методов радиационной защиты.

Опыт применения лазерной медицины свидетельствует о способности низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) корректировать протекание свободнорадикальных реакций, вызывающих радиационные поражения биоструктур. Корректирующие свойства НИЛИ проявляются в реактивации антиоксидантных ферментов, в благоприятном влиянии на кислородный обмен и процессы кроветворения, на репарацию повреждений генетического аппарата и показатели иммунитета [3, 4]. НИЛИ успешно применяется для лечения и реабилитации пациентов различного клинического профиля, а также для уменьшения негативного влияния ИР [5–7]. Результаты применения НИЛИ в новом направлении радиационной защиты – лечении и реабилитации онкологических больных – подтвердили возможность ее использования в онкологии [8–10]. Однако за последние годы существенного увеличения количества публикаций, посвященных этому вопросу, не отмечалось. Применение лазерной терапии как метода, позволяющего восстановить радиационные повреждения, не нашло широкого применения ввиду недостаточного понимания молекулярных механизмов наблюдаемых биомедицинских эффектов, инициируемых как ионизирующим, так и оптическим излучением. Научное обоснование полученных в онкологии результатов отсутствует. Как правило, приводятся лишь гипотезы, выдвигаемые по итогам анализа различных продуктов вторичных реакций.

Цель настоящей работы – проведение модельных исследований для изучения механизмов сочетанного действия лазерного и γ -излучения на живой организм и определения режимов лазерного воздействия, пригодных для радиационной защиты.

Материалы и методы исследования. Модельные исследования выполнены в 4 сериях экспериментов, в каждой из которых изучено 4 группы из 9 крыс-самцов. Изучено влияние на периферическую кровь крыс облучения всего тела γ -излучением ^{137}Cs (установка «Игур», доза 3 Гр, мощность облучения 0,67 Гр/мин); надвенозного лазерного облучения крови (НЛОК) в хвостовой вене крыс лазерным излучением, поглощаемым кровью ($\lambda = 670$ нм, плотность энергии $E = 6,25; 2,5; 1,25$ Дж/см², терапевтический аппарат «Люзар», Минск); комбинированного облучения γ - и лазерным излучением. Крыс 1-й контрольной группы (К) не подвергали действию физических факторов. Крыс 2-й группы лечили НЛОК, которое в 4 сериях экспериментов отличалось количеством процедур, последовательностью воздействия, выполнявшегося до или после γ -облучения, и плотностью лазерного излучения (E). В 1-й серии применяли три процедуры НЛОК при $E = 2,5$ Дж/см², а также однократное НЛОК при $E = 6,25$ Дж/см²; во 2-й – четыре процедуры НЛОК при $E = 1,25$ Дж/см²; в 3-й – 4 процедуры НЛОК при $E = 1,25$ Дж/см²; в 4-й – три процедуры НЛОК при $E = 2,5$ Дж/см². В 3-й группе все тело крыс однократно облучали γ -излучением. Крыс 4-й группы в каждой серии подвергали комбинированному воздействию γ - и лазерного излучения: в 1-й серии трехдневное и однократное НЛОК (2,5 и 6,25 Дж/см² соответственно) предшествовали γ -облучению; во 2-й серии 4 ежедневные процедуры НЛОК также выполняли перед γ -облучением; в 3-й и 4-й сериях крыс на 4-й день после γ -облучения лечили с применением 3 или 4 процедур НЛОК (2,5 и 1,25 Дж/см² соответственно). При работе с животными соблюдали Европейскую конвенцию о защите позвоночных животных, используемых с экспериментальными и другими научными целями.

В ходе эксперимента изучено 220 образцов крови живых крыс до и после физических процедур – на 4-й день после γ -облучения и на 2-й день после НЛЮК. Гематологические показатели определяли на гемоанализаторе (Hemacount, Германия). Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали по реакции с пероксид-зависимым окислением кверцетина в щелочной среде с использованием стандартного набора реактивов («Набор СОД: 100/2» производства НТПК «АнализХ») [11], активность каталазы (Кат) в сыворотке крови – по способности H_2O_2 образовывать стабильные окрашенные комплексы с молибдатом аммония [12]. Результаты измерений обрабатывали методом вариационной статистики с оценкой достоверности по t -критерию Стьюдента. Взаимодействие количественно нормально распределенных признаков определяли по корреляционному критерию Пирсона. Различия определяли при уровне значимости 0,05.

Результаты и их обсуждение. Во всех сериях экспериментов клетки лейкоцитов (WBC) и лимфоцитов (LYM) оказались наиболее чувствительными к γ -облучению в дозе 3 Гр (рис. 1). Их среднее количество в группах под влиянием дозы 3 Гр снижалось в 4–5 раз для WBC и в 7–5 раз для LYM, также уменьшалось их относительное количество в популяции лейкоцитов (рис. 2). Вследствие высокой чувствительности к γ -облучению клетки WBC и LYM могут служить маркерами радиационных поражений наряду с генетическими нарушениями.

Результаты экспериментов показали, что для среднего по группе количества клеток WBC и LYM изменения, инициированные γ -излучением, зависят от исходного среднего количества

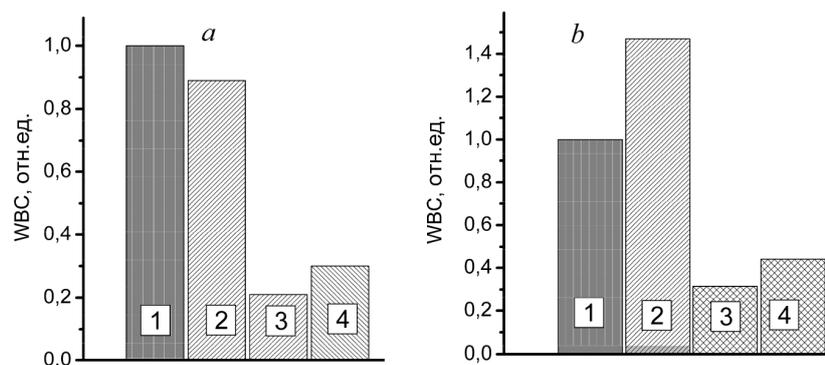


Рис. 1. Изменение среднего количества WBC (отн. ед.) при разных вариантах γ - и лазерного облучения: а) 1 – контроль, 2 – лазерное облучение (6,25 Дж/см²), 3 – γ -облучение дозой 3 Гр, 4 – комбинированное облучение (3 Гр + лаз.); б) 1 – контроль, 2 – лазерное облучение (1,25 Дж/см²), 3 – γ -облучение дозой 3 Гр, 4 – комбинированное облучение (3 Гр + лаз.)

Fig. 1. The relative change in the average amount of WBC for different variants of γ - and laser irradiation: а) 1 – control, 2 – laser irradiation (6.25 J/cm²), 3 – γ -irradiation with a dose of 3 Gy, 4 – combined irradiation (3 Gy + las.); б) 1 – control, 2 – laser irradiation (1.25 J/cm²), 3 – γ -irradiation with a dose of 3 Gy, 4 – combined irradiation (3 Gy + las.)

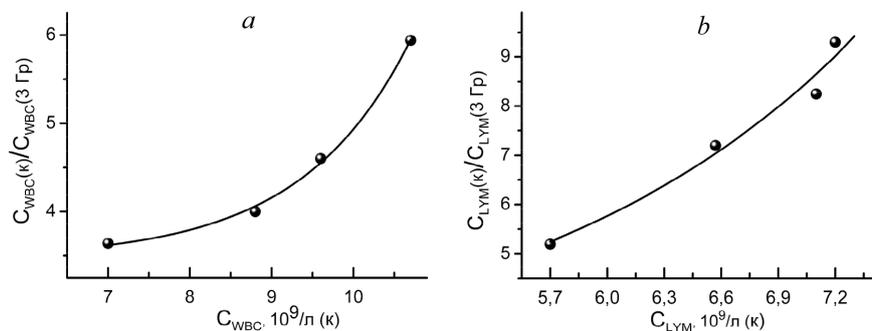


Рис. 2. Зависимость убыли среднего количества лейкоцитов $C_{WBC}(3\text{ Гр})$ (а) и лимфоцитов $C_{LYM}(3\text{ Гр})$ (б), вызванной γ -излучением (доза 3 Гр), от исходного количества клеток в периферической крови крыс ($C_{WBC}(K)$ и $C_{LYM}(K)$) в 4 сериях экспериментов

Fig. 2. Dependences of the decrease in the average number of white blood cells $C_{WBC}(3\text{ Гр})$ (а) and lymphocytes $C_{LYM}(3\text{ Гр})$ (б) caused by γ - radiation (3 Gy dose), from the initial number of cells in the peripheral blood of rats ($C_{WBC}(K)$ and $C_{LYM}(K)$) in 4 series of experiments

клеток по группе, а изменения для отдельных животных – от индивидуального исходного значения клеток. Как следует из данных, приведенных на рис. 2, среднее по группам количество WBC (C_{WBC}) и LYM (C_{LYM}) снижалось под влиянием дозы 3 Гр в разных сериях по-разному, в большей степени при более высоком исходном количестве клеток в периферической крови. Под влиянием одинаковой дозы в 3 Гр количество клеток WBC (C_{WBC}) уменьшилось в 3,1 раза при исходном значении $C_{WBC} = 7,0 \cdot 10^9/\text{л}$, но в 6 раз при $C_{WBC} = 10,7 \cdot 10^9/\text{л}$; C_{LYM} снизилось в 5,2 раза при исходной концентрации $C_{LYM} = 5,7 \cdot 10^9/\text{л}$, но в 9,3 раза при $C_{LYM} = 7,2 \cdot 10^9/\text{л}$. Отметим, что под влиянием дозы 3 Гр среднее количество WBC и LYM уменьшилось до величин, значительно ниже допустимых ($C_{WBC} < 2,4 \cdot 10^9/\text{л}$, $C_{LYM} < 2,4 \cdot 10^9/\text{л}$), что свидетельствует о гематологической токсичности этой умеренной дозы γ -излучения. Воздействие γ -излучения также по-разному изменило относительное количество клеток, входящих в пул WBC. Под влиянием γ -излучения на 4-й день относительное количество LYM в популяции WBC снизилось с 75–80 до 25–35 %.

Что касается влияния НЛОК, то в разных сериях экспериментов под его воздействием среднее по группе число клеток WBC (C_{WBC}) увеличилось в 1,3–1,6 раза, а C_{LYM} – в 1,3–1,8 раза по сравнению с полученным после γ -облучения, в 1,3–1,6 раза возросло относительное содержание LYM в пуле WBC. Аналогичные результаты достигнуты при лечении крыс с применением процедур НЛОК как до, так и после γ -облучения. Так как конечный результат зависит от соотношения скоростей радиационной убыли клеток и их восстановления, т. е. от временного интервала между γ -облучением и отбором образцов крови, то его увеличение могло улучшить регистрируемые результаты по сравнению с полученными на 4-й день.

Во всех 4 сериях экспериментов лейкоцитарная реакция периферической крови животных на используемые внешние воздействия (γ - и лазерное излучение) была разной. На рис. 3 представлена зависимость изменений количества лейкоцитов в периферической крови отдельных крыс от индивидуального исходного содержания WBC (K): $\delta WBC = WBC(\gamma \text{ или } \gamma + \text{ лаз.}) - WBC(K)$. Под влиянием каждого из указанных внешних факторов величина δWBC была меньше при более низких исходных величинах, но линейно увеличивалось с ростом WBC (K).

В то время как однократное γ -облучение в дозе 3 Гр вызывало лейкопению и лимфопению, концентрация Hb и количество RBC указывали на большую радиоустойчивость. Снижение этих показателей красной крови было незначительным. Согласно полученным данным, на 4-й день после γ -облучения среднее по группе количество RBC снизилось в 1,2 раза при исходной концентрации $C_{RBC} = 8,2 \cdot 10^9/\text{л}$ (1-я и 3-я серии экспериментов) и только в 1,05 раза при $C_{RBC} > 9,5 \cdot 10^9/\text{л}$ (2-я и 4-я серии). Наибольшее (в 1,2 раза) снижение концентрации RBC наблюдалось в 1-й серии экспериментов (рис. 4, а) и было меньше в последующих сериях, когда $C_{RBC}(K)/C_{RBC}(3 \text{ Гр}) < 1,08$. Снижению концентрации Hb в периферической крови сопутствовало уменьшение C_{RBC} , а также гематокрита (Hct), который убывал в 1,12 (1-я серия), 1,04 (2-я и 3-я серии) и 1,07 (4-я серия) раза. Воздействие излучений γ - и $\gamma + \text{ лаз.}$ не изменяло средний объем эритроцитов (MCV). Так, например, в 1-й серии экспериментов получены следующие средние по группе значения: $MCV = 50,2$ и $MCV = 50,6$ фл до и после γ -облучения соответственно, $MCV = 49,4$ фл после 3-дневного лазер-

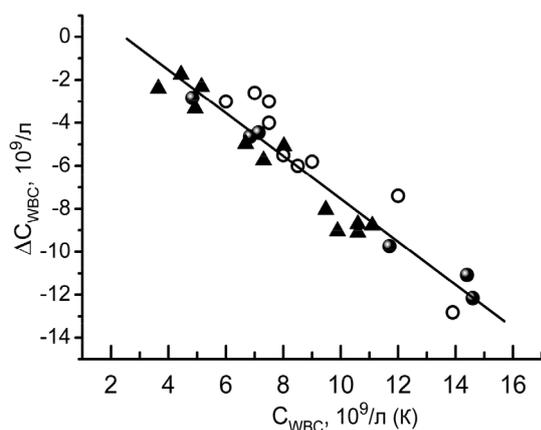


Рис. 3. Зависимость изменений индивидуального количества лейкоцитов ($\delta C_{WBC} = C_{WBC}(\gamma \text{ или } (\gamma + \text{ лаз.})) - C_{WBC}(K)$) от исходных значений C_{WBC} в крови отдельных крыс: при γ -облучении дозой 3 Гр (●); при комбинированном облучении γ -излучением, а затем с применением трех процедур лазерного излучения ($2,5 \text{ Дж}/\text{см}^2$) (○); при предварительном облучении с применением четырех процедур лазерного излучения ($1,25 \text{ Дж}/\text{см}^2$), а затем γ -излучением (▲) ($r = -0,95$, $p < 0,001$)

Fig. 3. Dependence of changes in the individual number of leukocytes ($\delta C_{WBC} = C_{WBC}(\gamma \text{ or } (\gamma + \text{ las.})) - C_{WBC}(K)$) from the initial C_{WBC} (K) values in the blood of individual rats: γ -irradiation with a dose of 3 Gy (●); combined irradiation with γ -radiation, and then with 3 laser radiation procedures ($2.5 \text{ J}/\text{cm}^2$) (○); preliminary irradiation with 4 laser radiation procedures ($1.25 \text{ J}/\text{cm}^2$), and then γ -radiation (▲) ($r = -0.95$, $p < 0.001$)

ного и последующего γ -облучения. Не изменялось также среднее содержание Hb в эритроцитах. Эти результаты свидетельствуют о том, что существенные изменения как проницаемости мембран эритроцитов, так и их разбухания вплоть до гемолиза, приводящего к выходу Hb из эритроцитов, отсутствуют. Отметим, что во всех сериях экспериментов концентрации Hb и RBC на 4-й день после γ -облучения оставались в диапазоне допустимых значений.

Под влиянием лазерного воздействия на кровь пострадиационное количество RBC и Hb не изменилось, в том числе в 1-й серии экспериментов, в которой радиационная убыль была наибольшей (рис. 5, *a*). Влияние НЛОК на скорость эритропоэза, восстанавливающего популяцию эритроцитов, очевидно, оказалось недостаточным для компенсации за 4 дня даже небольшой убыли RBC. Так же как и для других клеток крови, разное действие γ - и комбинированного излучения (γ + лаз.) на кровь отдельных животных проявилось в следующей зависимости от исходных индивидуальных концентраций RBC: $8C_{RBC} = C_{RBC}(\gamma\text{- или } \gamma + \text{лаз.}) - C_{RBC}(K)$. Как следует из

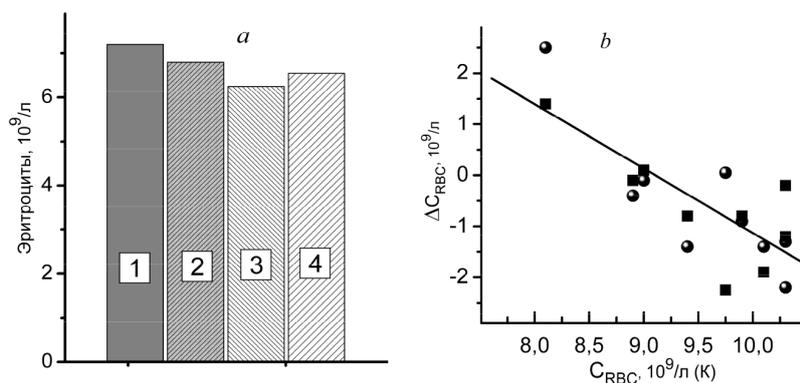


Рис. 4. Изменения концентрации эритроцитов в образцах крови крыс: *a*) 1 – интактные крысы, 2 – облученные γ -радиацией в дозе 1 Гр, 3 – облученные γ -радиацией в дозе 3 Гр, 4 – после трехдневного последующего лазерного воздействия ($E = 2,5 \text{ Дж/см}^2$) в 1-й серии экспериментов; *b*) зависимость индивидуальных изменений C_{RBC} от исходных значений C_{RBC} в крови отдельных крыс: γ -облучение (●), предварительное γ -облучение и последующие четыре процедуры НЛОК ($1,25 \text{ Дж/см}^2$) (■) ($r = -0,8, p < 0,001$)

Fig. 4. Changes in the concentration of erythrocytes in blood samples of rats: *a*) 1 – intactats, 2 – irradiated with γ -radiation at a dose of 1 Gy, 3 – γ -radiation at a dose of 3 Gy, 4 – after 3 days of subsequent laser exposure ($E = 2.5 \text{ J/cm}^2$) in the first series of experiments; *b*) the dependence of individual changes in C_{RBC} on the initial values of C_{RBC} (K) in the blood of individual rats: γ -irradiation (●), preliminary γ -irradiation followed by 4 procedures of NLOK (1.25 J/cm^2) (■) ($r = -0.8, p < 0.001$)

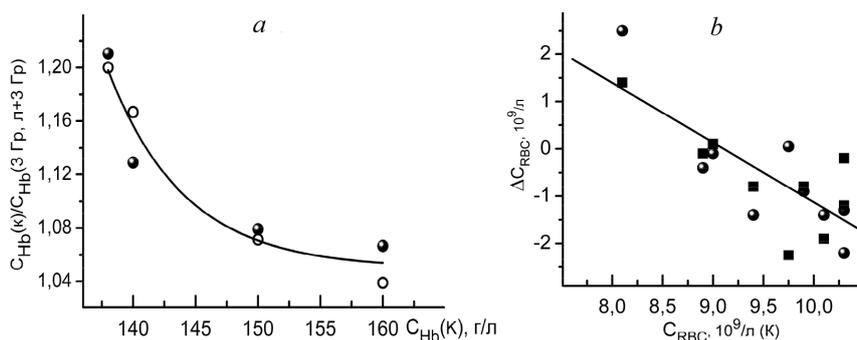


Рис. 5. Зависимость убыли средней концентрации C_{Hb} (3 Гр), вызванной γ -излучением (доза 3 Гр) (●) и комбинированным облучением (лаз. + 3 Гр) (○), от исходной концентрации (C_{Hb} (K)) в периферической крови крыс в 4 сериях экспериментов (*a*); индивидуальных изменений C_{Hb} от исходных значений C_{Hb} в крови отдельных крыс: γ -облучение (■); 3 предварительные процедуры НЛОК ($2,5 \text{ Дж/см}^2$) и последующее γ -облучение (●); 3 процедуры НЛОК ($2,5 \text{ Дж/см}^2$) (○) (*b*) ($r = -0,68, p < 0,001$)

Fig. 5. Dependence of the decrease in the average concentration of C_{Hb} (3 Gy) caused by γ -radiation (3 Gy dose) (●) and combined irradiation (las + 3 Gy) (○) in 4 series of experiments, from the initial concentration (C_{Hb} (K)) in the peripheral blood of rats (*a*); of individual changes in C_{Hb} on the initial values of C_{Hb} in the blood of individual rats: γ -irradiation (■); 3 preliminary procedures of the NLOK (2.5 J/cm^2) followed by γ -irradiation (●); 3 procedures of NLOK (2.5 J/cm^2) (○) (*b*) ($r = -0.68, p < 0.001$)

зависимости $8C_{RBC}$ от RBC, представленной на рис. 4, *b*, под действием указанных физических факторов происходило снижение высоких значений и увеличение низких. Представленные на рис. 5 зависимости как средних по группам, так и индивидуальных изменений концентрации гемоглобина C_{Hb} под влиянием γ - и лазерного излучения оказались подобны указанным выше для C_{RBC} .

Во всех 4 сериях экспериментов изменения под действием радиации средних по группе концентраций тромбоцитов (C_{PLT}) были невелики и зависели от исходных значений, которые переносили сезонные колебания. В то время как наиболее высокое значение ($C_{PLT} = 865 \cdot 10^9/\text{л}$), полученное в 3-й (январской) серии, снизилось в 1,15 раза, меньшие концентрации, полученные в 1-й сентябрьской ($C_{PLT} = 745 \cdot 10^9/\text{л}$), 2-й ноябрьской ($C_{PLT} = 757 \cdot 10^9/\text{л}$) и IV апрельской ($C_{PLT} = 557 \cdot 10^9/\text{л}$) сериях возросли в 1,1; 1,2; 1,12 раза соответственно, демонстрируя тенденцию к тромбоцитемии периферической крови. Как следует из данных, представленных в таблице, предварительное и последующее применение НЛОК не оказало существенного влияния на количество PLT.

Влияние радиозащитного действия лазерного излучения на основные показатели периферической крови и активность ферментов антиоксидантной защиты после γ -облучения всего тела крыс дозой 3 Гр при разных вариантах НЛОК

The radio protective effect of laser radiation on the main parameters of peripheral blood and the activity of antioxidant protection enzymes after γ -irradiation of the whole body of rats with a dose of 3 Gy and different variants of NLOK

Серия эксперимента	Соотношение показателей	C_{WBC}	C_{LYM}	LYM, %	C_{RBC}	C_{Hb}	C_{PLT}	СОД	Кат
1	(лаз. + γ)/ γ	1,60	1,80	1,60	1,00	1,01	0,87	1,7	1,77
2	(лаз. + γ -)/ γ -	1,22	1,33	1,31	1,00	1,00	0,98	1,24	1,2
3	(γ - + лаз.)/ γ -	1,40	1,34	1,47	1,05	1,00	0,83	1,31	0,97
4	(γ - + лаз.)/ γ -	0,7	0,4	1,00	1,02	1,00	0,89	1,00	–

Примечание. Варианты НЛОК: 1 – три процедуры НЛОК (2,5 Дж/см²) перед γ -облучением; 2 – четыре процедуры НЛОК (1,25 Дж/см²) перед γ -облучением; 3 – три процедуры НЛОК (2,5 Дж/см²) после γ -облучения; 4 – четыре процедуры НЛОК (1,25 Дж/см²) после γ -облучения

Известно, что действие ИР приводит к активации процессов свободнорадикального окисления и снижению активности компонентов антиоксидантной защиты [13, 14]. Поэтому в настоящей работе для контроля за развитием окислительного стресса, инициированного γ -излучением, использовалась оценка изменений активности основных ферментов антиоксидантной защиты: СОД, ускоряющей на четыре порядка образование перекиси водорода (H_2O_2) из супероксидного радикала, а также Кат. Под влиянием γ -излучения средняя по группе активность СОД и Кат снижалась, что свидетельствовало об истощении резервов антиоксидантной защиты организма. Иницированная γ -облучением убыль активности СОД зависела от исходной величины и проявилась в 4 сериях в большей степени при высоких начальных значениях СОД (К)/СОД (γ): 1,55; 1,36; 1,46; 1,0 при 130,6; 119,5; 119,8; 101 U/мл соответственно. Предварительное и последующее применение НЛОК увеличивало сниженную γ -излучением активность СОД и Кат. Важным результатом является инициированный НЛОК одновременный рост не только активности СОД, сниженной действием γ -излучения, но и среднего по группе количества C_{WBC} и C_{LYM} . Приведенные результаты показывают, что фотоактивация ферментов антиоксидантной защиты – один из механизмов радиопротекторного действия низкоинтенсивного оптического излучения.

Выводы

1. Установлено, что однократное облучение всего тела экспериментальных животных γ -излучением в дозе 3 Гр приводит к сильному (до 4–6 раз) снижению общего содержания лейкоцитов периферической крови – одного из ведущих показателей тяжести лучевого поражения. Получено как абсолютное, так и относительное снижение (в 5–9 и 3–4 раза соответственно) числа лимфоцитов в пуле лейкоцитов. Однократное облучение в дозе 3 Гр не вызывало существенных изме-

нений как концентрации Hb, так и содержания RBC, убывавших не более чем в 1,2 раза. Также невелика была инициированная γ -излучением убыль количества PLT.

2. Показано, что показатели устойчивости к γ -излучению у отдельных крыс (одной линии Вистар, одного пола, возраста и массы после облучения одной и той же дозой 3 Гр) сильно отличались. Наблюдалась зависимость радиационного угнетения всех основных показателей периферической крови крыс (C_{Hb} , C_{RBC} , C_{WBC} , C_{LYM} , C_{PLT}) от их исходного содержания.

3. Восстанавливающее действие лазерного излучения, поглощаемого кровью, проявилось в росте среднего по группам числа лейкоцитов и лимфоцитов и их количества в пуле лейкоцитов по сравнению с пострadiационным, а также в увеличении активности ферментов антиоксидантной защиты. Полученные результаты воздействия НИЛИ ($\lambda = 670$ нм) на венозную кровь крыс показали, что для определения более эффективных режимов восстанавливающего действия необходимы дальнейшие исследования зависимостей гематологических показателей как от дозы лазерного излучения, так и от очередности воздействия γ - и лазерного излучения.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Ф16Д-005).

Acknowledgements. The work was carried out with the financial support of the Belarusian republican foundation for fundamental research (Project F16D-005).

Список использованных источников

1. Кудряшов, Ю. Б. Радиационная биофизика (ионизирующее излучение) : учеб. для студентов вузов / Ю. Б. Кудряшов. – М. : Физматлит, 2004. – 442 с.
2. El-Shanshoury, H. Evaluation of low dose ionizing radiation effect on some blood components in animal model / H. El-Shanshoury, G. El-Shanshoury, A. Abaza // *J. of Radiation Research and Applied Sciences*. – 2016. – Vol. 9, N 3. – P. 282–293.
3. Карандашов, В. И. Фототерапия : (Светолечение) : рук. для врачей / В. И. Карандашов, Е. Б. Петухов, В. С. Зродников ; под ред. Н. Р. Палеева. – М. : Медицина, 2001. – 389 с.
4. Залеская, Г. А. Фотомодификация крови терапевтическими дозами оптического излучения / Г. А. Залеская. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 198 с.
5. Laser light induced modification of the mice peripheral blood parameters and the number of bone marrow karyocytes after the action of ionizing radiation / K. Voskanyan [et al.] // *J. of Physical Science and Application*. – 2012. – Vol. 2, N 2. – P. 7–10.
6. Reduction of radiation damage in mice after acute and prolonged irradiation with gamma rays by means of laser device / K. Voskanyan [et al.] // *J. of Physical Science and Application*. – 2014. – Vol. 4, N 8. – P. 501–506.
7. Efremova, Yu. Protective effects of 940 nm laser on gamma-irradiated mice / Yu. Efremova, Z. Sinkorova, L. Navratil // *Photomedicine and Laser Surgery*. – 2015. – Vol. 33, N 2. – P. 82–91.
8. Зырянов, В. Н. Низкоинтенсивная лазерная терапия в онкологии / В. Н. Зырянов, В. А. Евтушенко, З. Д. Кицманюк. – Томск : Scientific and technical translations, 1998. – 335 с.
9. Клинические исследования эффективности низкоинтенсивного лазерного излучения в онкологии / Л. И. Гусев [и др.] // *Вестн. Рос. онкол. науч. центра им. Н. Н. Блохина Рос. акад. мед. наук*. – 2003. – Т. 14, № 2. – С. 36–41.
10. Bensadoun, R.-J. Low level laser therapy (LLL): a new paradigm in management of cancer therapy-induced mucosites? / R.-J. Bensadoun // *Indian J. of Medical Research*. – 2006. – Vol. 124, N 4. – P. 375–378.
11. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // *Вопр. мед. химии*. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.
12. Góth, L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range / L. Góth // *Clinica Chimica Acta*. – 1991. – Vol. 196, N 2–3. – P. 143–152.
13. Gorbunov, N. Protracted oxidative alteration in mechanism of hematopoietic acute radiation syndrome / N. Gorbunov, P. Sharma // *Antioxidants*. – 2015. – Vol. 4, N 4. – P. 134–152.
14. Indicators of oxidative stress after ionizing and/ or non-ionizing radiation: Superoxid dismutase and malondialdehyde / Z. F. Skalická [et al.] // *J. of Photochemistry and Photobiology*. – 2012. – Vol. 117. – P. 111–114.

References

1. Kudryashov Yu. B. *Radiation biophysics (ionizing radiation)*. Moscow, Fizmatlit Publ., 2004. 442 p. (in Russian).
2. El-Shanshoury H., El-Shanshoury G., Abaza A. Evaluation of low dose ionizing radiation effect on some blood components in animal model. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 2016, vol. 9, no. 3, pp. 282–293. DOI: 10.1016/j.jrras.2016.01.001
3. Karandashov V. I., Petukhov E. B., Zrodnikov V. S. *Phototherapy: (Light therapy)*. Moscow, Meditsina Publ., 2001. 389 p. (in Russian).

4. Zalesskaya G. A. *Blood photomodification with therapeutic doses of optical radiation*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 198 p. (in Russian).
5. Voskanyan K., Vorozhtsova S., Abrosimova A., Mitsyn G., Gaevsky V. Laser light induced modification of the mice peripheral blood parameters and the number of bone marrow karyocytes after the action of ionizing radiation. *Journal of Physical Science and Application*, 2012, vol. 2, no. 2, pp. 7–10.
6. Voskanyan K., Vorozhtsova S., Abrosimova A., Mitsyn G., Gaevsky V., Molokanov A. Reduction of radiation damage in mice after acute and prolonged irradiation with gamma rays by means of laser device. *Journal of Physical Science and Application*, 2014, vol. 4, no. 8, pp. 501–506. DOI: 10.17265/2159-5348/2014.08.005
7. Efremova Yu., Sinkorova Z., Navratil L. Protective effects of 940 nm laser on gamma-irradiated mice. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2015, vol. 33, no. 2, pp. 82–91. DOI: 10.1089/pho.2014.3824
8. Zyryanov V. N., Evtushenko V. A., Kitsmanyuk Z. D. *Low-intensity laser therapy in oncology*. Tomsk, Scientific and technical translations Publ., 1998. 335 p. (in Russian).
9. Gusev L. I., Shakhshuryan S. B., Rozhnov R. Yu., Kiselevskii M. V., Lenskaya O. P. Clinical studies of the effectiveness of low-intensity laser radiation in oncology. *Vestnik Rossiiskogo onkologicheskogo nauchnogo tsentra imeni N. N. Blokhina Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Bulletin of the Russian Cancer Research Center named after N. N. Blokhin Russian Academy of Medical Sciences], 2003, vol. 14, no. 2, pp. 36–41 (in Russian).
10. Bensadoun R.-J. Low level laser therapy: a new paradigm in management of cancer therapy-induced mucosites? *Indian Journal of Medical Research*, 2006, vol. 124, no. 4, pp. 375–378.
11. Kostjuk V. A., Potapovich A. I., Kovaleva J. V. A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin oxidation. *Voprosy medicinskoj himii* [Problems of Medical Chemistry], 1990, vol. 36, no. 2, pp. 88–91 (in Russian).
12. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 1991, vol. 196, no. 2–3, pp. 143–152. DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-M
13. Gorbunov N., Sharma P. Protracted oxidative alteration in mechanism of hematopoietic acute radiation syndrome. *Antioxidants*, 2015, vol. 4, no. 4, pp. 134–152. DOI: 10.3390/antiox4010134
14. Skalická Z. F., Zölzer F., Beránek L., Racek J. Indicators of oxidative stress after ionizing and/ or non-ionizing radiation: Superoxid dismutase and malondialdehyde. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2012, vol. 117, pp. 111–114. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2012.08.009

Информация об авторах

Залесская Галина Адамовна – д-р физ.-мат. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zalesskaya@imaph.bas-net.by.

Насек Владимир Михайлович – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, д. 5, корп. 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labtox@yandex.by.

Зильберман Роман Дмитриевич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, д. 5, корп. 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labtox@yandex.by.

Information about the authors

Galina A. Zalesskaya – D. Sc. (Phys. and Math.), Professor, Chief researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezasvisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zalesskaya@imaph.bas-net.by.

Vladimir M. Nasek – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labtox@yandex.by.

Roman D. Zilberman – Scientific researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labtox@yandex.by.

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 631.421:631.417.2

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-209-221

Поступила в редакцию 09.10.2017

Received 09.10.2017

Е. В. Скрыльник¹, Н. В. Шевченко², М. А. Попирный¹, О. Т. Николов³

¹Национальный научный центр «Институт почвоведения и агрохимии имени А. Н. Соколовского»,
Харьков, Украина

²Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева, Харьков, Украина

³Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харьков, Украина

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ СУПРАСТРУКТУРЫ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ЧЕРНОЗЕМА ТИПИЧНОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБОВ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ

Аннотация. С помощью физико-химических методов изучено влияние способов обработки чернозема типичного на состояние воды и перестройку межмолекулярных связей, т. е. на супраструктуру гуминовых кислот (ГК). Установлено, что ГК, экстрагированные из почвы залежи, ввиду наличия участков с гидрофобными и гидрофильными доменами гетерогенны по составу, что обусловлено сбалансированным функционированием сопряженных процессов накопления и распада органического вещества почвы (ОВП). В то же время обработка чернозема вызывает потери ОВП. Обнаружено, что после вспашки из-за увеличения биодеградации ОВП содержание фульвокислот и количество свободной воды, а также число гидроксильных и карбоксильных групп ГК повышаются, способствуя увеличению лабильности ОВП и высвобождению питательных веществ. Установлено, что после вспашки чернозема типичного отмечается конформационная перестройка межмолекулярных взаимодействий в супраструктуре ГК, вызванная гидрофильной гидратацией. Координируемые свободными диполями воды полярные структурные элементы с доступными карбоксильными группами стабилизируют новую конформацию ГК преимущественно за счет водородных связей. Показано, что при 9-летнем использовании No till из-за большего содержания неполярных ароматических структур и меньшего – доступных полярных гидрофильных структур количество свободной воды уменьшается. Это обуславливает стабилизацию конформации супраструктуры ГК за счет гидрофобных сил, что определяет накопление труднодеградируемого консервативного ОВП. С помощью трансмиссионного электронного микроскопа установлено наличие в ГК, экстрагируемых из почвы после вспашки, частиц меньшего размера, чем в ГК, экстрагируемых из почвы после No till, что связано с отличием в молекулярной организации их гуминовой супраструктуры.

Ключевые слова: обработка почвы, супраструктура ГК, свободная вода, гидрофобно-гидрофильные структуры, перестройка межмолекулярных взаимодействий, конформационная перестройка, гидроксильные и карбоксильные группы

Для цитирования: Конформационные перестройки супраструктуры гуминовых кислот чернозема типичного в зависимости от способов обработки почвы / Е. В. Скрыльник [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 209–221. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-209-221

E. V. Skrylnik¹, N. V. Shevchenko², M. A. Popirny¹, O. T. Nikolov³

¹National Scientific Center “O. N. Sokolovsky Institute for Soil Science and Agrochemistry Research”, Kharkiv, Ukraine

²Kharkiv National Agrarian University named after V. V. Dokuchayev, Kharkiv, Ukraine

³V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

CONFORMATIONAL RESTRUCTURES OF SUPERSTRUCTURE OF HUMIC ACIDS OF CHERNOZEM TYPICAL IN DEPENDENCE BY SOIL TILLAGE

Abstract. The physicochemical methods have been used to study the effect of soil tillage of typical black soil for the state of water and the restructuring of intermolecular bonds that determine the of the superstructure of humic acids (HA). It has been established that the HA of the virgin soil is more heterogeneous in composition, due to the presence of hydrophobic and hydrophilic domains, that is due to the equilibrium of the conjugated processes of accumulation and decomposition of soil organic matter (SOM), while tillage of typical black soil caused losses of SOM. It was found that plowing increases the content of fulvic acids and the amount of free water and hydroxyl and carboxyl groups of HA, due to the increase the biodegradation of SOM, which promotes the labile SOM and release of more nutrients. It has been established that plowing of typical black soil leads to conformational rearrangement of intermolecular interactions in the superstructure of HA by hydrophilic hydration. Polar structural elements coordinated by free water dipoles with accessible carboxyl groups. They stabilized the new conformation of HA mainly by hydrogen bonds. It has been shown that the 9-year use of No till leads to a decrease in free

water, due to the greater availability of non-polar aromatic structures, and to the reduction of unavailable hydrophilic components, which causes the conformation of the superstructure of HA to stabilize mainly by hydrophobic forces, which causes the accumulation of a hard-to-degradable conservative SOM. Transmission electron microscopy (TEM) have been revealed the presence of smaller particles in the HA samples, in contrast to the sample of HA by No till, which is due to the difference in the molecular organization of their humic superstructures.

Keywords: soil tillage, superstructure of HA, free water, hydrophobic-hydrophilic structures, restructuring of intermolecular interactions, conformational rebulding, hydroxyl, carboxyl groups

For citation: Skrylnik E. V., Shevchenko M. V., Popirny M. A., Nikolov O. T. Conformational restructures of superstructure of humic acids of chernozem typical in dependence by soil tillage. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 209–221 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-209-221

Введение. Способы обработки почвы как антропогенный фактор влияния на трансформационные процессы органического вещества в почве (ОВП) определяют накопление и активность гумусовых веществ (ГВ) [1, 2]. Известно, что из-за естественной саморегуляции открытой термодинамической гумусовой системы процессы синтеза и распада ОВП в природных ценозах более сбалансированы, чем в агроценозах [3]. Саморегуляция системы ГВ почвы определяется самоорганизацией гетерогенной смеси природных биоорганических молекул (биомолекул) в водных средах [4–6]. Самоорганизация ГВ в водной среде осуществляется посредством слабых мультидисперсионных гидрофобных межмолекулярных взаимодействий (Ван дер Ваальсовы, π - π и С- π силы) и водородных связей (Н-связей), которые формируют большого размера супрамолекулярные ансамбли (надмолекулярные комплексы) ГВ из относительно меньших по размеру и гетерогенных биомолекул различного происхождения, образующиеся в результате биодеградации ОВП [5, 6]. Поведение ГВ в почве обусловлено их амфифильными свойствами, которые определяют их биосферные функции [3].

Функционирование ГВ как гидрофильно-гидрофобных веществ в почве происходит в водной среде, и взаимодействие составляющих структур с водой во многом определяет пространственную конфигурацию надмолекулярных комплексов целом (макроструктуру). В нативном (природном) состоянии (как и все биополимеры клетки) ГВ находятся в гидратированном виде, поэтому структура водного окружения обуславливает их подвижность в почве [4–8].

Супрамолекулярные ансамбли ГВ, которые агрегируются в гумусовые супрамолекулярные ассоциаты, где маленькие гидрофильные молекулы имеют достаточно кислотных функциональных групп ($-\text{OH}$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{COOH}$) и удерживают свои кластеры при любых рН, относят к фульвокислотам (ФК). Ассоциаты, которые сформированы преимущественно неполярными гидрофобными структурами и которые стабилизируются при нейтральном рН дисперсионными гидрофобными силами, относят к гуминовым кислотам (ГК). Постепенное увеличение в размерах гуминовой супраструктуры при понижении рН обусловлено стабилизацией конформации преимущественно Н-связями [5, 6]. Наибольшее количество органического углерода содержится в гидрофобных доменах гуминовой супраструктуры, которые представлены низкомолекулярными сопряженными ароматическими структурами ($\text{C}=\text{C}$), что определяет высокое содержание углерода в черноземах типичных благодаря высокой биологической активности почвы, которая вызывает глубокий распад устойчивых фенольных лигниновых структур клеточных стенок растений [5–7]. Гидрофильные и гидрофобные домены гумусовых молекул прилегают друг к другу или содержат друг друга вместе с гидратированной водой, формируют большие по размеру молекулярные ассоциаты ГВ, что определяет их амфифильные свойства, активность и полифункциональность [6, 8]. В гуминовой супрамолекулярной организации межмолекулярные взаимодействия определяют конформационную стабильность, а сложность распределения слабых мультидисперсионных сил регулирует экологическую реакционную способность ГВ [3, 5, 6, 9, 10].

В результате интенсивной обработки почвы происходит смещение трансформационных процессов вследствие возрастания биодеградационных процессов неустойчивого пула ОВП [1–3]. Это может приводить не только к потере гумуса, но и к разрушению функциональной устойчивой супраструктуры вследствие необратимой перестройки устойчивой гуминовой конформации [6, 11–13], а также к дегумификационным процессам, что определяет агрогенную трансформацию ОВП и формирование экологически не устойчивых участков [11, 12]. Отсутствие постоянной

компенсации растительными остатками или органическими удобрениями текущих расходов органического вещества обусловлено главным образом биологической минерализацией (биодegradацией) слабо стабилизированных новообразованных органических веществ [1, 2, 11]. Изменение соотношения между минерализацией свежего органического вещества, образованием и стабилизацией новых органических веществ – основные факторы, влияющие на уменьшение содержания гумуса и ухудшение его качественных характеристик, присущих антропогенным неустойчивым участкам [1]. Влияние обработки почвы на устойчивость супрамолекулярной организации ГК определяется изменением условий гумификации, что обуславливает образование нестабильной водной структуры и отсутствие неполярного (гидрофобного) микроокружения лабильного гидрофильного домена [14]. Поэтому при конформационных перестройках супраструктуры ГК необходимо учитывать стабилизирующее действие водного окружения (включение водных кластеров извне) и гидрофобного окружения, предохраняющего от микробиологической минерализации новообразованные ГВ [14, 15].

В земледелии одним из способов возвращения утраченного органического углерода, глобальной стабилизации CO_2 и агрономических качеств почв является минимизация обработки почвы, а именно популярная система нулевой обработки (No till) и покровной культуры, которые успешно используются в Северной Америке и различных европейских странах с соответствующими климатическими условиями [16]. Неудачные последствия, по мнению сторонников таких технологий, объясняются недостаточным периодом применения, который должен составлять не менее 6–8 лет для полного восстановления естественного состояния почв, и создания необходимых условий [17]. Поэтому изучение влияния интенсивных технологий обработки и No till с длительным применением на молекулярные процессы реагирования гумусовых молекул и их ассоциатов особенно актуальны как для современной фундаментальной науки, так и в агроэкологическом аспекте.

Цель работы – изучение конформационной перестройки супраструктуры гуминовых кислот чернозема типичного в зависимости от способов обработки почвы.

Материалы и методы исследования. Отбор почвенных образцов проводили на стационарном опытном поле кафедры земледелия Харьковского национального аграрного университета имени В. В. Докучаева. Опыт был заложен в 2006 г. для определения эффективности технологий обработки чернозема типичного. Схема полевого опыта: 1) 40-летняя залежь (контроль); 2) интенсивная обработки (вспашка на глубину 20–22 см), 3) нулевая обработка (No till), прямой посев в необработанную почву. Образцы чернозема типичного отбирали на глубине 0–20 см по стандартной методике [18].

Содержание общего углерода ($\text{C}_{\text{общ}}$) в почве определяли методом Тюрина [19], общего азота ($\text{N}_{\text{общ}}$) – методом Кьельдаля [20], лабильного углерода ($\text{C}_{\text{лаб}}$) – методом Егорова [21], гумусовых веществ – методом Кононовой-Бельчиковой [22], подвижных соединений калия и фосфора – методом Чирикова [23].

Получение щелочных вытяжек ГК проводили по методу Орлова [24], после чего вытяжки центрифугировали, фильтровали, концентрировали в вакуумном испарителе и подвергали диализу. Для изменения pH щелочной среды вытяжек ГК (pH 11) до pH 2,0 последние обрабатывали лимонной кислотой по методике уменьшения гетерогенности ГВ, при которой происходит перереорганизация супраструктуры ГВ [5, 6, 9]. Для проведения инфракрасной (ИК) спектроскопии пропускания с преобразованием Фурье (FTIR) использовали спектрофотометр SPECTRUM ONE PerkinElmer со стандартной областью измерения $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$. Образцы ГК в жидкой фазе подсушивали на пленке и прессовали в таблетки с КВг. Состояние воды в жидких образцах ГК определяли методом СВЧ-спектроскопии, используя цилиндрический H_{01n} -резонатор с рабочей частотой 9,2 ГГц. Данная методика позволяет зафиксировать изменение частоты релаксации дипольных моментов воды, которое обусловлено подвижностью свободных диполей в поле СВЧ [25]. В качестве эталона для вычисления сдвига частот (f_0 , кГц) и СВЧ мощности (u_0 , ма) по абсолютной величине использовали пустой резонатор (без образца).

Эксклюзионную (проникающую) гель-хроматографию по размерам молекул ГК проводили на хроматографической колонке с рабочим объемом 70 мл, используя гель-сефадекс G-200, иден-

тификацию фракций – по поглощению света при 465 нм, элюцию – 0.1 н гидроксидом натрия и 0.1 н лимонной кислотой по стандартной методике [26], электрофорез – по стандартной методике [26].

Для просвечивающей (трансмиссионной) электронной микроскопии образцов ГК использовали электронный микроскоп Selmi EM 125.

Результаты и их обсуждение. Снижение содержания общего углерода за время 9-летнего сельскохозяйственного использования вспашки и No till по сравнению с таковым в залежи (табл. 1) связано с увеличением биологической минерализации, особенно при вспашке, после интенсивного механического перемешивания слоя чернозема на глубине 0–20 см. При этом накопление лабильного углерода, азота, а также питательных веществ при вспашке обусловлено поступлением в почву свежих растительных остатков и их активной деградацией. Кроме того, наличие лучших водно-воздушных условий привело к более активной биодеградации ОВП микробным сообществом и к изменению направленности ферментативной активности почвы.

Таблица 1. Содержание органических и питательных веществ в 5–20-сантиметровом слое чернозема типичного при разных способах обработки почвы, %

Table 1. Organic and nutrient content in a 5–20-centimeter layer of chernozem typical for different methods of soil treatment, %

Показатель	Залежь	Вспашка	No till
Общий углерод	2,91	2,56	2,52
Лабильный углерод	0,11	0,13	0,10
Общий азот	0,25	0,27	0,23
Соотношение C:N	11,64	9,48	10,96
Подвижные соединения фосфора, мг/кг	73,27	85,47	75,95
Подвижные соединения калия, мг/кг	129,61	131,34	93,89
Гуминовые кислоты	0,96	0,88	0,86
Фульвокислоты	0,31	0,32	0,27

Со снижением поступления растительных остатков в 5–20-сантиметровом слое чернозема типичного при использовании No till отмечалось уменьшение содержания органических и питательных веществ. При вспашке чернозема типичного (табл. 1) благодаря увеличению минерализации ОВП содержание ГК снизилось, а ФК – увеличилось по сравнению с таковыми в залежи, а при No till отмечалось уменьшение содержания как ГК, так и ФК. Это вызвано перераспределением группового состава ГВ, обусловленным изменением условий (доступом кислорода и влаги, оксидредуктазной активностью и рН) и, как следствие, изменением направленности и интенсивности трансформации ГВ [27].

С помощью FTIR было показано, что ГК исследованных вытяжек имеют типичный спектр (рис. 1, 2), в котором проявляются характерные для ГВ полосы поглощения. В полученных спектрах FTIR полосы поглощения 3200–3400 и 3400–3500 см⁻¹ обуславливают колебание гидроксильных и фенолгидроксильных групп (–ОН), образование межмолекулярных Н-связей, для которых характерно насыщение и которые связаны с координацией кластеров ГК диполями свободной воды [28, 29]. Дуплеты 2900–2800 см⁻¹ обусловлены валентными колебаниями алифатических периферийных групп –СН₂, –СН₃, деформационными колебаниями С–Н метоксильных групп (–ОСН₃) и кислородзамещенными полярными ионизированными группами (1440 и 1375–1230 см⁻¹) циклических ароматических структур. Сопряженные циклические ароматические структуры проявляются в диапазоне 1500–1525 см⁻¹, что связано с присутствием молекул воды в вытяжках, которые сдвигают традиционную полосу 1600–1625 см⁻¹ в коротковолновую область. Для кетонных и карбоксильных групп (С=О и –СООН) характерен диапазон 1710–1725 см⁻¹. Наличие данных полос поглощения указывает на общность в построении макроструктуры ГК и на различия в относительной интенсивности и в сдвигах полос поглощения [3]. Сдвиг полос поглощения вызван различной ионизацией кислородсодержащих боковых функциональных групп ароматических структур, что обусловлено таутомерными (кетонольные формы) переходами и соответ-

ственным расположением (ориентацией) дипольных моментов, их активностью и способностью к межмолекулярным и донорно-акцепторным взаимодействиям, которые определяют стабилизацию гуминовой конформации [3, 28–32].

По данным FTIR щелочных вытяжек (см. рис. 1), макроструктура ГК залежи при pH 11,0 имеет интенсивные полосы поглощения при 1440 и 1710 см^{-1} , что указывает на присутствие разнообразных по амфифильным свойствам компонентов и обуславливает гетерогенный состав ГК залежи.

Отсутствие интенсивного поглощения при 1440 см^{-1} в ГК, экстрагированных из почвы после вспашки, и присутствие разных, но слабых по интенсивности полос поглощения (1440, 1375 и 1235 см^{-1}), а также интенсивной полосы (1710 см^{-1}) указывает на формирование ГК с большим содержанием кислородсодержащих ионизированных групп. Поглощение ГК, экстрагированных

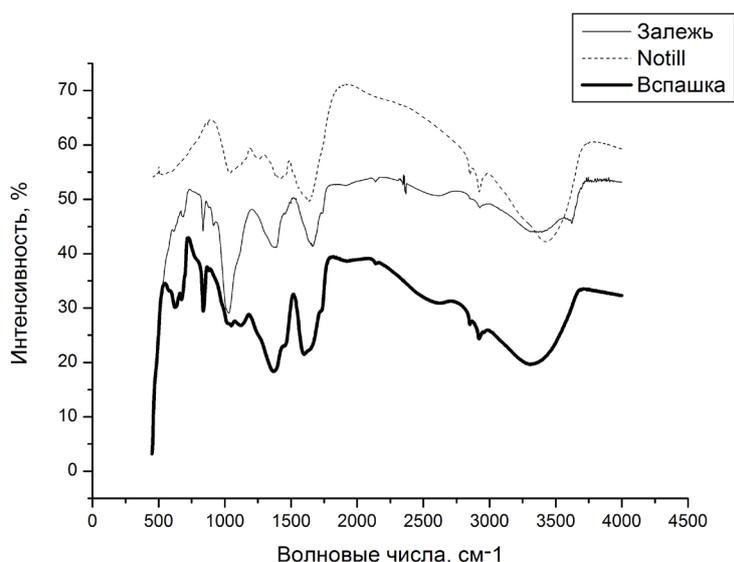


Рис. 1. FTIR-спектры щелочных вытяжек ГК, экстрагированных из чернозема типичного после разных способов обработки почвы

Fig. 1. FTIR spectra of alkaline extracts of humic acids extracted from chernozem typical after different methods of soil cultivation

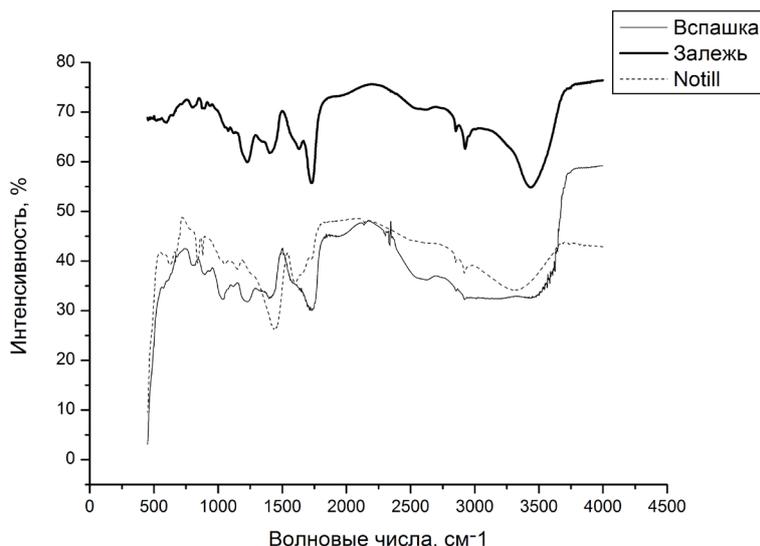


Рис. 2. FTIR-спектры вытяжек ГК с pH 2,0, экстрагированных из чернозема типичного после разных способов обработки почвы

Fig. 2. FTIR spectra of humic acid extracts with pH 2.0, extracted from chernozem typical after different soil treatments

из почвы после No till, при 1500 см^{-1} обусловлено присутствием неполярных сопряженных ароматических структур.

При изменении pH до 2,0 на спектрах FTIR (рис. 2) отмечаются усиление и сдвиг частот поглощения карбоксильными и –ОН группами (что также свидетельствует о присутствии свободной воды) при залежи и вспашке, а также дополнительные полосы ионизированных и замещенных групп. При вспашке происходит уширение диапазона поглощения при 3400 см^{-1} , связанное с образованием дополнительных Н-мостиков между –ОН и свободными диполями кластеров воды, что указывает на присутствие в ГК полярных структур ароматической природы, которые координируются молекулами воды (дополнительные акцепторы-доноры Н-связей). Незначительные изменения в ГК, экстрагированных из почвы после No till, связаны с появлением небольших полос ионизированных групп и ароматических сопряженных структур при 1625 см^{-1} . При этом в супраструктуре ГК (No till) при изменении pH наблюдается интенсивное поглощение при 1500 см^{-1} с незначительным сдвигом в коротковолновую область ИК-поглощения, что указывает на присутствие в ГК большего количества неполярных ароматических структур.

Щелочные вытяжки, по данным СВЧ-спектроскопии (табл. 2), содержат меньше свободной воды, на что указывает частота колебаний свободных диполей воды в поле СВЧ (Δf) по сравнению с таковой при измененной до pH 2,0. Повышение уровня свободной воды при изменении pH после обработки лимонной кислотой, вероятно, связано с перестройкой гидрофобно-гидрофильных взаимодействий и конформационной переорганизацией всей супрамакроструктуры ГК. Как известно, добавление лимонной кислоты и других органических кислот не вызывает разрыва ковалентных связей (двойной связи C=C) и гидролиза структурных компонентов ГВ (в отличие от минеральных кислот), а благодаря наличию полярных и неполярных элементов влияет на ориентацию дипольных моментов кислородсодержащих групп, приводя к распаду гидрофобных межмолекулярных взаимодействий (а соответственно, и к распаду большей по размеру супраструктуры) и образованию новых, преимущественно с участием более сильных Н-связей, которые стабилизируют супраструктуру ГК [5, 6, 9, 10]. В результате гидрофильной конформационной переорганизации участие воды является доминирующим, так как определяет энтропию образования новых связей между вновь ассоциируемыми молекулярными агрегатами. Однако в щелочных вытяжках наблюдаются увеличение частоты (Δf) и потеря мощности СВЧ-излучения в образцах ГК, выделенных из вспаханной почвы, по сравнению с образцами, выделенными из залежи и после применения No till. Это указывает на большее содержание свободной воды в ГК при вспашке чернозема типичного.

Обработка лимонной кислотой вытяжек ГК вызвала увеличение содержания свободной воды, особенно в образцах ГК, выделенных при вспашивании чернозема типичного, что связано с наличием большего количества полярных структур, представленных кислородсодержащими группами, которые способны к межмолекулярным взаимодействиям координируемыми Н-связями кластеров воды.

Т а б л и ц а 2. СВЧ-спектроскопия вытяжек ГК, экстрагированных из чернозема типичного после разных способов обработки почвы

Table 2. Microwave spectroscopy of extracts of uumic acid, extracted from chernozem typical after different methods of soil cultivation

Обработка почвы	u_0 (мк)	f_0 , кГц	u	f	Δu	Δf
Щелочные вытяжки ГК (pH 11,0)						
Залежь	195,8	2943,2	88,6	2165,9	114,4	685,9
Вспашка	197,8	2903,4	88,4	2124,4	109,4	779,0
No till	190,2	3037,8	75,9	2351,9	114,3	685,9
Вытяжки ГК с pH 2,0 (после обработки лимонной кислотой)						
Залежь	277,4	2867,5	100,3	2034,6	177,1	832,9
Вспашка	247,2	2807,2	79,7	1799,7	167,5	1007,4
No till	204,3	2875,3	98,0	2112,9	106,4	762,3

Наименьшее содержание свободной воды отмечалось в ГК, выделенных из почвы после No till, что связано с наличием большого количества неполярных структур, которые слабо поддаются конформационным перестройкам. Наличие в ГК, выделенных из почвы залежи, промежуточного значения свободной воды свидетельствует о присутствии как полярных, так и неполярных структур, и указывает на возможность гидратации их супраструктуры по гидрофильному и гидрофобному типу. Таким образом, формируется структура, при которой лабильные участки (гидрофильные) расположены в окружении гидрофобных неполярных структур, в которых происходит упрочнение Н-связей гидрофобным эффектом. Это оберегает лабильные участки от дестабилизирующего действия возмущающих внешних факторов среды [14].

Молекулярное распределение щелочных вытяжек ГК обусловлено бимодальным распределением, которое выражено двумя характерными для ГВ максимумами (рис. 3). Первый максимум соответствует выходу больших по размеру гуминовых молекул и их ассоциатов, которые представлены разветвленными алифатическими и ароматическими структурами с функциональными полярными группами, а также свободной водой. Второй максимум соответствует меньшим по размеру молекулам и низкомолекулярным структурам ароматических сопряженных колец. Разветвленные алифатические структуры взаимодействуют с ароматическими сопряженными структурами благодаря СН-π связям, между собой ароматические сопряженные структуры связываются через стекнинг π-π-связи, при этом в сопряженных циклических структурах, как известно, активно осуществляются электронные переходы, влияющие на характер донорно-акцепторные взаимодействия через перераспределение электронной плотности [5, 6, 30].

Профиль молекулярного распределения щелочной вытяжки ГК залежи указывает на выход большего количества, но меньших по размеру молекулярных фракций, представленных низкомолекулярными сопряженными ароматическими структурами (рис. 3). Однако при изменении рН щелочной вытяжки ГК до 11,0 после добавления лимонной кислоты и до рН 2,0 наблюдается обратный эффект – увеличение первого максимума, обусловленное наличием свободной воды и гидрофильных компонентов с полярными группами, относительно второго (рис. 4).

Эффект обусловлен перестройкой межмолекулярных связей между структурными элементами и связанной водой в супраструктуре ГК, а также снижением оптической плотности (гипохромный эффект), что подтверждается рядом работ [4–7, 9, 10]. Обработка лимонной кислотой вызывает изменение конформации супраструктуры ГК за счет перестройки гидрофобных взаи-

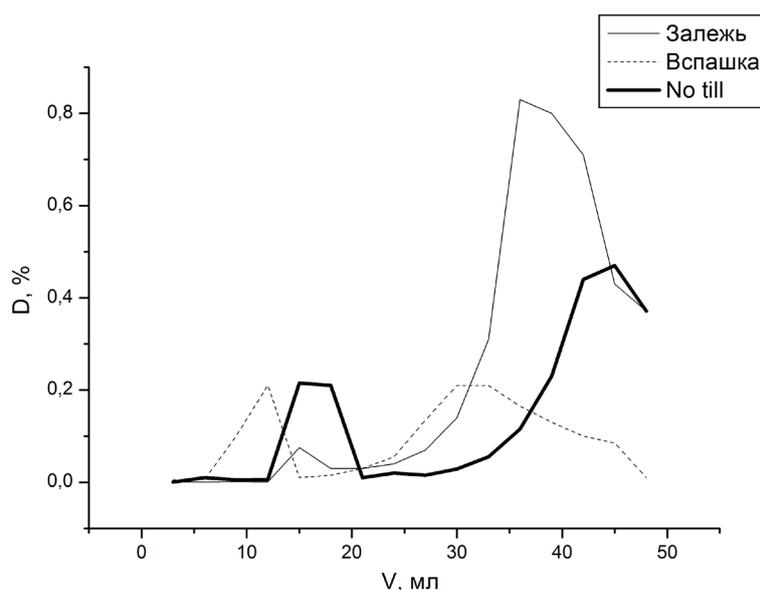


Рис. 3. Профиль бимодального молекулярного распределения щелочных вытяжек ГК при разном способе обработки чернозема

Fig. 3. Profile of the bimodal molecular distribution of alkaline extracts of humic acid with a different method of treating chernozem

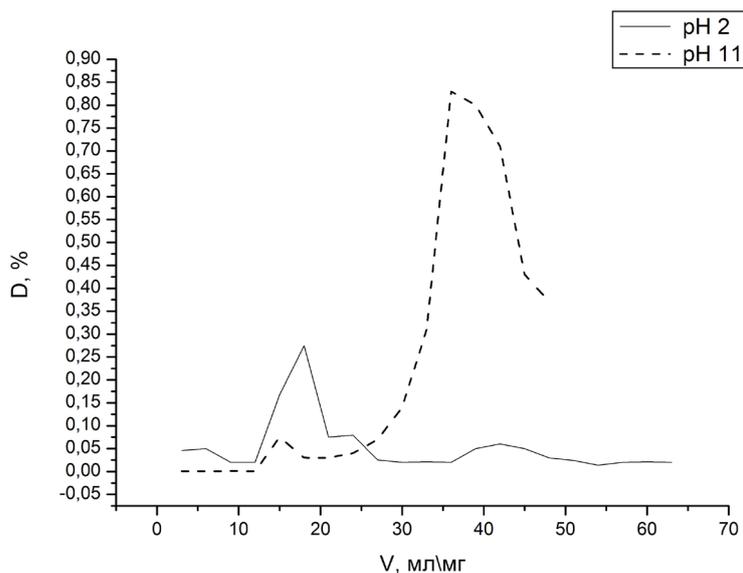


Рис. 4. Профиль молекулярного распределения ГК залежи при pH 11,0 и pH 2,0

Fig. 4. The profile of the molecular distribution of the alkaline extract of humic acid deposits at pH 11.0 and pH 2.0

модействий между неполярными молекулами, при которой происходит перестройка конформации ГК в супраструктуру, которая стабилизирована преимущественно более сильными Н-связями между полярными структурами и меньшими по размеру молекулярными ассоциатами [5, 6]. При этом результаты эксклюзионной гель-хроматографии свидетельствуют о наличии в ГК залежи как гидрофобных, так и гидрофильных структур. Последние проявляются при изменении pH органическими кислотами амфифильной природы через деблокирование кислородсодержащих функциональных групп.

Вспашка привела к уменьшению второго максимума и увеличению первого, а также сместила время и объем элюции в сторону нулевого объема, соответствующего только свободной воде (см. рис. 3). Соотношение этих максимумов обусловлено большим содержанием гидрофильных структур, которые координируются присутствием кластеров свободной воды. Таким образом, обработка почвы способствовала формированию гидрофильной конформации ГК чернозема типичного. Использование No till привело к увеличению второго максимума и некоторому смещению первого в сторону большего времени элюции, что указывает на увеличение содержания неполярных структур (рис. 3).

Обработка лимонной кислотой образцов ГК вспашки и No till указывает на распад первичной конформации и на дальнейшую перестройку супраструктуры ГК. Наблюдаемый гипохромный эффект по сравнению с таковым при залежи обусловлен меньшим содержанием ароматических структур. Однако полное исчезновение первого максимума при вспашке и увеличение второго указывает на полную перестройку гидрофильной конформации с высвобождением свободной воды и стабилизацией имеющихся неполярных структур гидрофобными силами (рис. 5). В образце ГК No till при pH 2,0 перестройка межмолекулярных связей менее выражена из-за присутствия первых максимумов и полимодального второго максимума, что обусловлено большим содержанием неполярных структур в составе ГК (рис. 5).

Результаты гель-электрофореза подтверждают общность состава образцов ГК – наличие окрашенных фракций свидетельствует о присутствии сопряженных ароматических структур. Отличие фракций заключается в разной интенсивности окраски полос, что вызвано различным конформационным состоянием супраструктуры образцов ГК и изменением pH щелочных вытяжек.

На рис. 6 показана электронно-микроскопическая фотография образца ГК, выделенного из вспаханного чернозема, где наблюдается агрегация частиц меньшего размера. При наблюдении за поведением частиц размером около 10–100 нм в диаметре отмечается их способность агрегироваться в водной среде в более крупные молекулярные агрегаты, что согласуется с данными

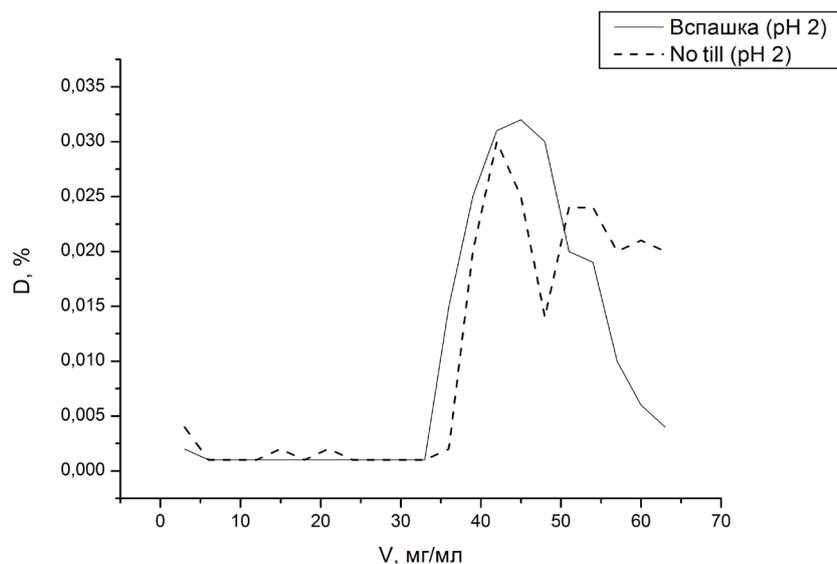


Рис. 5. Профиль молекулярного распределения вытяжек ГК при pH 2,0

Fig. 5. Profile of the molecular distribution of humic acid extracts at pH 2.0

других работ [3, 33]. При этом наблюдается их сильное наслаивание и плохое просвечивание, вызванное агрегацией гидрофобных неполярных органических частиц, особенно образцов ГК из чернозема при No till.

При этом увеличение наслаивания (от 500 до 1000 нм) вызвано большим содержанием трудно разлагаемого органического вещества (рис. 7). Результаты анализа образца ГК, экстрагированного из почвы под залежью, указывают на присутствие гетерогенных по размеру частиц и их молекулярных агрегатов, что указывает на различия в конформационной организации гуминовой супраструктуры (рис. 8).

Таким образом, наблюдаемое под трансмиссионным электронным микроскопом наличие в ГК, экстрагированных из чернозема типичного после вспашки, частиц меньшего размера, чем в ГК, экстрагированных из почвы после технологии No till, обусловлено различиями в макроскопической организации супраструктуры их ГК.

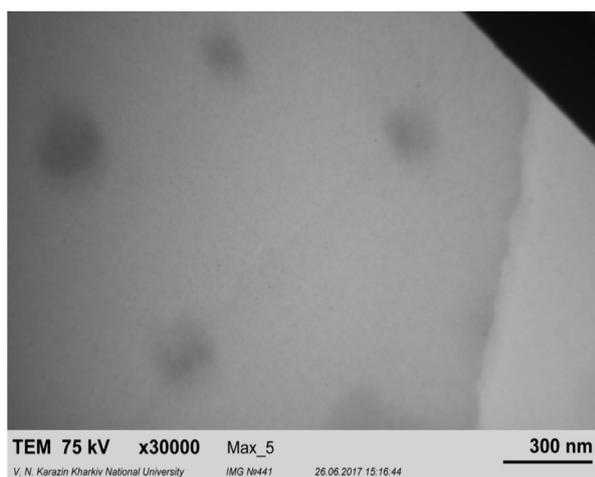


Рис. 6. Трансмиссионная электронная микроскопия образца ГК, выделенного из чернозема типичного после вспашки

Fig. 6. Transmission electron microscopy of a sample of humic acid isolated from chernozem typical after plowing

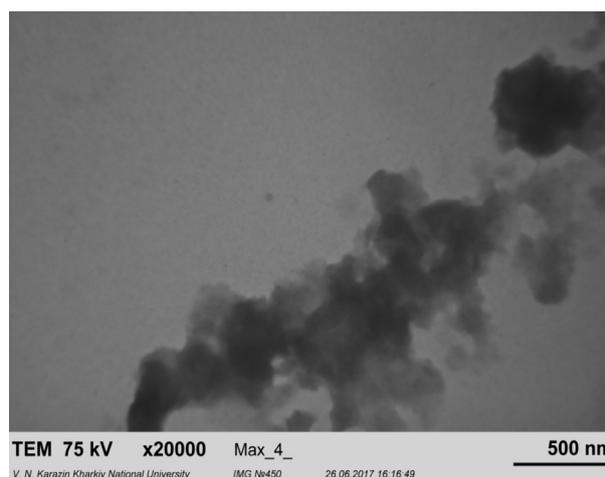


Рис. 7. Трансмиссионная электронная микроскопия образца ГК, выделенного из чернозема типичного, обработанного по технологии No till

Fig. 7. Transmission electron microscopy of a sample of humic acid isolated from chernozem typical, processed by technology No till

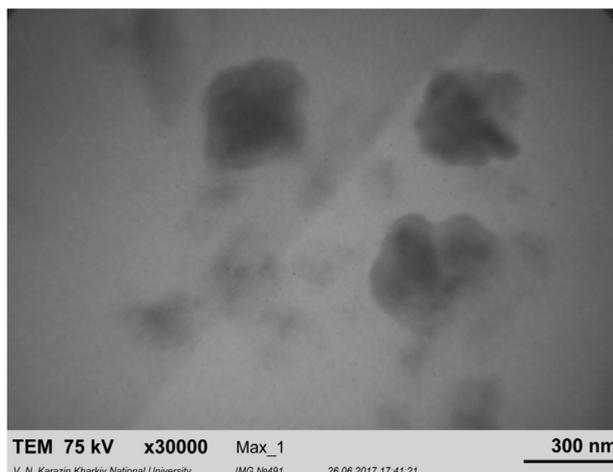


Рис. 8. Трансмиссионная электронная микроскопия образца ГК, экстрагированного из чернозема типичного, под залежью

Fig. 8. Transmission electron microscopy of a sample of humic acid extracted from typical chernozem under the deposit

Заключение. С помощью физико-химических методов установлено, что применение разных способов обработки почвы позволяет стабилизировать конформационную супраструктуру ГК путем изменения их амфифильного состава, обусловленного характером биodeградационных процессов в микробном сообществе чернозема типичного. Показано, что ГК, экстрагируемые из почвы под залежью, являются гетерогенными по амфифильному составу за счет стабилизации супраструктуры преимущественно дисперсионными гидрофобными силами, которые предохраняют гидрофильные домены лабильного пула ОВП от интенсивной биологической минерализации микробным сообществом чернозема типичного.

Изменение состава ГК вызывает перестройку слабых межмолекулярных связей, что обуславливает изменение реакционной способности ГК. Так, в составе ГК, выделенных из почвы после вспашки, имеется наибольшее количество кислородсодержащих групп в виде ОН– и С=О карбоксильных групп, что вызывает изменение реакционной активности в сторону ее увеличения. При этом отмечаемая стабилизация конформации ГК, преимущественно за счет Н-связей между кислородсодержащими группами ароматических структур, вызывает гидрофильную гидратацию и увеличение содержания свободной воды. После 9-летней вспашки чернозема типичного отмечается усиление минерализационного процесса за счет интенсификации разложения ОВП ферментами микробного ценоза, интенсивного перемешивания верхнего слоя почвы и доступа кислорода. Это приводит к снижению уровня общего углерода, увеличению содержания ФК в групповом составе ОВП и высвобождению лабильного углерода, общего азота и питательных элементов, доступных растению.

Использование No till приводит к увеличению в составе ГК неполярных ароматических структур и к снижению образования в составе ОВП лабильных доступных питательных веществ вследствие накопления трудноминерализуемого ОВП в исследуемых образцах чернозема типичного. Показано, что ГК, экстрагируемые из почвы после No till, способствуют перестройке супраструктуры благодаря уменьшению содержания свободной воды и гидрофобным взаимодействиям между неполярными гидрофобными ароматическими структурами.

Список использованных источников

1. Скрильник, С. В. Вплив систем обробітку та удобрення на гумусовий стан і вміст поживних речовин у чорноземі типовому/ С. В. Скрильник, О. С. Перебиговська, В. П. Москаленко // Агрохімія і ґрунтознавство : міжвідом. темат. наук. зб. / Нац. Наук. центр «Ін-т ґрунтознавства та агрохімії ім. О.Н.Соколовського». – Харків, 2008. – Вип. 68. – С. 90–94.
2. Quality and dynamics of soil organic matter in a typical chernozem of Ukraine under different long-term tillage systems / Y. Kravchenko [et al.] // Canadian J. of Soil Science. – 2012. – Vol. 92, N 3. – P. 429–438.

3. Орлов, Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации / Д. С. Орлов. – М. : Изд-во Моск. гос. ун-та, 1990. – 325 с.
4. Wershaw, R. L. Molecular aggregation of humic substances / R. L. Wershaw // *Soil Science*. – 1999. – Vol. 164, N 11. – P. 803–813.
5. Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances / A. Piccolo // *Soil Science*. – 2001. – Vol. 166, N 11. – P. 810–832.
6. Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and application in soil science / A. Piccolo // *Advances in Agronomy*. – 2002. – Vol. 75. – P. 57–134.
7. Yonebayashi, K. Surface active properties of soil humic acids / K. Yonebayashi, T. Hattori // *Science of the Total Environment*. – 1987. – Vol. 62. – P. 55–64.
8. Милановский, Е. Ю. Амфифильные компоненты гумусовых веществ почв / Е. Ю. Милановский // *Почвоведение*. – 2000. – № 6. – С. 706–715.
9. Nebbioso, A. Advances in Humeomic: enhanced structural identification of humic molecules after size fractionation of a soil humic acid / A. Nebbioso, A. Piccolo // *Analytica Chimica Acta*. – 2012. – Vol. 720. – P. 77–90.
10. Conformational changes of dissolved humic and fulvic superstructures with progressive iron complexation / A. Nuzzo [et al.] // *J. of Geochemical Exploration*. – 2013. – Vol. 129. – P. 1–5.
11. Овчинникова, М. Ф. Признаки и механизмы агрогенной трансформации гумусовых веществ дерново-подзолистой почвы / М. Ф. Овчинникова // *Агрохимия*. – 2012. – № 1. – С. 3–13.
12. Цапко, Ю. Л. Дискусійні проблеми гумусу / Ю. Л. Цапко // *Ґрунтознавство*. – 2015. – Т. 16, № 3–4. – С. 83–89.
13. Феноменология функциональных структурных моделей природных гумусовых и синтезированных гуминоподобных веществ / В. И. Ионенко [и др.] // *Сибир. вестн. с.-х. науки*. – 1988. – № 5. – С. 91–104.
14. Molecular dynamics simulations of water molecule-bridges in polar domains of humic acids / A. J. A. Aquino [et al.] // *Environmental Science and Technology*. – 2011. – Vol. 45, N 19. – P. 8411–8419.
15. Hydration and water holding properties of cross-linked lignite humic acids / Z. Cihlár [et al.] // *Geoderma*. – 2014. – Vol. 230–231. – P. 151–160.
16. Медведев, В. В. Нульовий обробіток ґрунту в європейських країнах / В. В. Медведев. – Харків : ЕДЕНА, 2010. – 200 с.
17. Шевченко, М. В. Ефективність мінімальних технологій обробітку ґрунту при вирощуванні зернових культур у лівобережному лісостепу / М. В. Шевченко // *Корми і кормовиробництво*. – 2014. – Вип. 79. – С. 56–61.
18. Якість ґрунту. Відбирання проб: ДСТУ 4287:2007. – [Чинний від 2004-30-04]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2005. – 9 с.
19. Якість ґрунту. Методи визначання органічної речовини: ДСТУ 4289:2004. – [Чинний від 2005-07-01]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2005. – 14 с. – (Національний стандарт України).
20. Якість ґрунту. Визначення загального азоту в модифікації ННЦ ІГА ім. О. Н. Соколовського: ДСТУ 4726:2004. – [Чинний від 2005-07-01]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2005. – 14 с. – (Національний стандарт України).
21. Якість ґрунту. Методи визначання доступної (лабільної) органічної речовини: ДСТУ 4732:2007. – [Чинний від 2008-01-01]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2008. – 12 с. – (Національний стандарт України).
22. Якість ґрунту. Визначення групового складу гумусу за методом Тюріна у модифікації Конової та Бельчикової: ДСТУ 7855:2015. – [Чинний від 2016-07-01]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2016. – 9 с. – (Національний стандарт України).
23. Якість ґрунту. Методи визначання валового фосфору і валового калію в модифікації ННЦ ІГА ім. О. Н. Соколовського: ДСТУ 4290:2004. – [Чинний від 2005-07-01]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2005. – 14 с. – (Національний стандарт України).
24. Орлов, Д. С. Практикум по химии гумуса : учеб. пособие / Д. С. Орлов, Л. А. Гришина. – М. : Изд-во Моск. гос. ун-та, 1981. – 271 с.
25. Николов, О. Т. Измерение комплексной диэлектрической проницаемости жидких диэлектриков с большими потерями / О. Т. Николов, Т. А. Жилиякова // *Журн. физ. химии*. – 1991. – Т. 65, № 5. – С. 1417–1420.
26. Остерман, Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот / Л. А. Остерман. – М. : Наука, 1985. – 536 с.
27. Попірний, М. А. Вплив інтенсивності обробітку ґрунту на склад, фізичні та хімічні властивості другої фракції гумінових кислот, екстрагованих з чорнозему типового / М. А. Попірний, О. Т. Ніколов, Є. В. Скрильник // *Біофіз. вісн.* – 2016. – Т. 35, № 35. – С. 34–45.
28. Бахшиев, Н. Г. Введение в молекулярную спектроскопию : учеб. пособие / Н. Г. Бахшиев. – 2-е изд., испр. и доп. – Л. : Изд-во Ленингр. гос. ун-та, 1987. – 216 с.
29. Горбачевич, С. К. Спектроскопия межмолекулярных взаимодействий. Нелинейные эффекты / С. К. Горбачевич. – Минск : Изд-во Белорус. гос. ун-та, 2002. – 149 с.
30. Кудярова, А. Ю. Приложение фундаментальных положений химии к пониманию механизмов образования и трансформации гумусовых веществ (обзор литературных и собственных экспериментальных данных) / А. Ю. Кудярова // *Почвоведение*. – 2007. – № 9. – С. 1048–1063.
31. Stevenson, F. J. Infrared spectra of humic acid and related substances / F. J. Stevenson, K. M. Gosh // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1971. – Vol. 35, N 5. – P. 471–483.
32. Piccolo, A. Infrared spectra of Cu^{2+} , Pb^{2+} and Ca^{2+} complexes of coil humic substances / A. Piccolo, F. J. Stevenson // *Geoderma*. – 1982. – Vol. 27, N 3. – P. 195–208.
33. Supramolecular structure of humic acids by TEM with improved sample preparation and staining / M. Baalousha [et al.] // *Microscopy Research and Technique*. – 2005. – Vol. 66, N 6. – P. 299–306.

References

1. Skril'nik E. V., Perebikovs'ka O. S., Moskalenko V. P. Influence of systems of cultivation and fertilization on the humus state and nutrient content in chernozem typical. *Agrokhimiya i gruntovnavstvo: mizhvidomchii tematichnii naukovii zbirnik = AgroChemistry and Soil Science: a collected papers*. Kharkiv, 2008, Iss. 68, pp. 90–94 (in Ukrainian).
2. Kravchenko Y., Rogovska N., Petrenko L., Zhang X., Song C., Chen Y. Quality and dynamics of soil organic matter in a typical chernozem of Ukraine under different long-term tillage systems. *Canadian Journal of Soil Science*, 2012, vol. 92, no. 3, pp. 429–438. DOI: 10.4141/cjss2010-053
3. Orlov D. S. *Soil humus acids and general theory of humification*. Moscow, Moscow State University Publ., 1990. 325 p. (in Russian).
4. Wershaw R. L. Molecular aggregation of humic substances. *Soil Science*, 1999, vol. 164, no. 11, pp. 803–813. DOI: 10.1097/00010694-199911000-00004
5. Piccolo A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science*, 2001, vol. 166, no. 11, pp. 810–832. DOI: 10.1097/00010694-200111000-00007
6. Piccolo A. The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and application in soil science. *Advances in Agronomy*, 2002, vol. 75, pp. 57–134. DOI: 10.1016/S0065-2113(02)75003-7
7. Yonebayashi K., Hattori T. Surface active properties of soil humic acids. *Science of the Total Environment*, 1987, vol. 62, pp. 55–64. DOI: 10.1016/0048-9697(87)90481-5
8. Milanovskii E. Yu. Amphiphilous Components of Soil Humic Substances. *Eurasian Soil Science*, 2000, vol. 33, no. 6, pp. 617–625.
9. Nebbioso A., Piccolo A. Advances in Humeomic: enhanced structural identification of humic molecules after size fractionation of a soil humic acid. *Analytica Chimica Acta*, 2012, vol. 720, pp. 77–90. DOI: 10.1016/j.aca.2012.01.027
10. Nuzzo A., Sánchez A., Fontaine B., Piccolo A. Conformational changes of dissolved humic and fulvic superstructures with progressive iron complexation. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, vol. 129, pp. 1–5. DOI: 10.1016/j.gexplo.2013.01.010
11. Ovchinnikova M. F. Attributes and mechanism of the agrogenic transformation of humic substances in soddy-podzolic soil. *Agrokhimiya [Agrochemistry]*, 2012, no. 1, pp. 3–13 (in Russian).
12. Tsapko Yu. L. Discussion problems of humus nature. *Gruntovnavstvo [Soil Science]*, 2015, vol. 16, no. 3–4, pp. 83–89 (in Ukrainian).
13. Ionenko V. I., Golovachev E. A., Sukacheva O. I., Kotlyarenko I. P., Beskrovnyi A. M. Phenomenology of functional structural models of natural humus and synthesized humic-like substances. *Sibirskii vestnik sel'skhozyaistvennoi nauki [Siberian Herald of Agricultural Science]*, 1988, no. 5, pp. 91–104 (in Russian).
14. Aquino A. J. A., Tunega D., Pašalić H., Schaumann G. E., Haberhauer G., Gerzabek M. H., Lischka H. Molecular dynamics simulations of water molecule-bridges in polar domains of humic acids. *Environmental Science and Technology*, 2011, vol. 45, no. 19, pp. 8411–8419. DOI: 10.1021/es201831g
15. Cihlář Z., Vojtová L., Conte P., Nasir S., Kučerik J. Hydration and water holding properties of cross-linked lignite humic acids. *Geoderma*, 2014, vol. 230–231, pp. 151–160. DOI: 10.1016/j.geoderma.2014.04.018
16. Medvedev V. V. *Soil cultivation in European countries*. Kharkiv, EDENA Publ., 2010. 200 p. (in Ukrainian).
17. Shevchenko M. V. Efficiency of the minimum tillage technologies in growing grain crops in the left-bank forest-steppe. *Kormi i kormovirobnitstvo [Feed and Feed Production]*, 2014, iss. 79, pp. 56–61 (in Ukrainian).
18. Soil quality. Sample selection: SSU 4287:2007 [Introduction of 2004–30–04]. Kiev, Gospotrebstandart Ukrainy, 2005. 9 p. (in Ukrainian).
19. *Quality of soil. Methods of determination of organic matter*: SSU 4289:2004 [Introduction of 2005–07–01]. Kiev, Gospotrebstandart Ukrainy, 2005. 14 p. (Natsional'nyi standart Ukrainy) (in Ukrainian).
20. *Quality of soil. Determination of total nitrogen in the modification of the NSC IPA named after A. N. Sokolovsky*: SSU 4726:2004 [Introduction of 2005–07–01]. Kiev, Gospotrebstandart Ukrainy, 2005. 14 p. (Natsional'nyi standart Ukrainy) (in Ukrainian).
21. *Quality of soil. Methods for the determination of available (labile) organic matter*: SSU 4732:2007 [Introduction of 2008–01–01]. Kiev, Gospotrebstandart Ukrainy, 2008. 12 p. (Natsional'nyi standart Ukrainy) (in Ukrainian).
22. *Quality of soil. Determination of the group composition of humus by the method of Tyurin in the modification of Kononova and Belchikov*: SSU 7855:2015 [Introduction of 2016–07–01]. Kiev, Gospotrebstandart Ukrainy, 2016. 9 p. (Natsional'nyi standart Ukrainy) (in Ukrainian).
23. *Quality of soil. Methods for determination of total phosphorus and gross potassium in the modification of the NNC IPA named after A. N. Sokolovsky*: SSU 4290:2004 [Introduction of 2005–07–01]. Kiev, Gospotrebstandart Ukrainy, 2005. 14 p. (Natsional'nyi standart Ukrainy) (in Ukrainian).
24. Orlov D. S., Grishina L. O. *Practical course on the chemistry of humus*. Moscow, Moscow State University Publ., 1981. 272 p. (in Russian).
25. Nikolov O. T., Zhilyakova T. A. Measurement of the complex dielectric permittivity of liquid dielectrics with large losses. *Zhurnal fizicheskoi khimii = Russian Journal of Physical Chemistry A*, 1991, vol. 65, no. 5, pp. 1417–1420 (in Russian).
26. Osterman L. A. *Chromatography of proteins and nucleic acids*. Moscow, Nauka Publ., 1985. 536 p. (in Russian).
27. Popirny M. A., Nikolov O. T., Skril'nik E. V. Effect of soil treatment intensity on the composition, physical and chemical properties of the second fraction of humic acids extracted from typical chernozem. *Biofizichnii visnik = Biophysical Bulletin*, 2016, vol. 1, no. 35, pp. 34–45 (in Ukrainian).

28. Bakhshiev N. G. *Introduction to molecular spectroscopy*. 2nd ed. Leningrad, Leningrad State University Publ., 1987. 216 p. (in Russian).
29. Gorbatsevich S. K. *Spectroscopy of intermolecular interactions. Nonlinear effects*. Minsk, Belarusian State University Publ., 2002. 149 p. (in Russian).
30. Kudayarova A. Yu. Application of basic chemical concepts to understanding the formation and transformation mechanisms of humic substances: A review of publications and own experimental data. *Eurasian Soil Science*, 2007, vol. 40, no. 9, pp. 934–948. DOI: 10.1134/s1064229307090037
31. Stevenson F. J., Gosh K. M. Infrared spectra of humic acid and related substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1971, vol. 35, no. 5, pp. 471–483. DOI: 10.1016/0016-7037(71)90044-5
32. Piccolo A., Stevenson F. J. Infrared spectra of Cu²⁺, Pb²⁺ and Ca²⁺ complexes of coil humic substances. *Geoderma*, 1982, no. 27, vol. 27, no 3, pp. 195–208. DOI: 10.1016/0016-7061(82)90030-1
33. Baalousha M., Motelica-Heino M., Galaup S., Le Coustumer P. Supramolecular structure of humic acids by TEM with improved sample preparation and staining. *Microscopy Research and Technique*, 2005, vol. 66, no. 6, pp. 299–306. DOI: 10.1002/jemt.20173

Информация об авторах

Скрыльник Евгений Владимирович – д-р с.-х. наук, заведующий лабораторией. Институт почвоведения и агрохимии имени А. Н. Соколовского (ул. Чайковская, 4, 61024, г. Харьков, Украина). E-mail: orgminlab@gmail.com.

Шевченко Николай Викторович – д-р с.-х. наук, заведующий кафедрой. Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева (62483, Харьковская обл., Харьковский р-н, п/о «Докучаевское 2»). E-mail: nniagbio@email.

Попирный Максим Анатольевич – мл. науч. сотрудник. Институт почвоведения и агрохимии имени А. Н. Соколовского (ул. Чайковская, 4, 61024, г. Харьков, Украина). E-mail: max.popirny@gmail.com.

Николов Олег Тимофеевич – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник. Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина (пл. Свободы, 4, 61022, г. Харьков, Украина).

Information about the authors

Eugene V. Skrylnyk – D. Sc. (Agricult.), Head of the Laboratory. O. N. Sokolovsky Institute for Soil Science and Agrochemistry Research (4, Chaikovskaya Str., 61024, Kharkiv, Ukraine). E-mail: orgminlab@gmail.com.

Nikolay V. Shevchenko – D. Sc. (Agricult.), Head of the Department. Kharkiv National Agrarian University named after V. V. Dokuchayev (62483, Kharkiv reg., Kharkiv dis., p/d “Dokuchayev 2”). E-mail: nniagbio@email.

Maxim A. Popirny – Researcher. O. N. Sokolovsky Institute for Soil Science and Agrochemistry Research (4, Chaikovskaya Str., 61024, Kharkiv, Ukraine). E-mail: max.popirny@gmail.com.

Oleg T. Nikolov – Ph. D. (Phys. and Math.), Leading researcher. V. N. Karazin Kharkiv National University (4, Svobody Sq., 61022, Kharkiv, Ukraine).

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 630+556.136

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-222-231

Поступила в редакцию 13.06.2017

Received 13.06.2017

В. П. Бессонова, А. П. Криворучко

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, Днепр, Украина

**ПОКАЗАТЕЛИ ВОДНОГО ОБМЕНА ЛИСТЬЕВ ДУБА QUERCUS ROBUR L.
И QUERCUS RUBRA L. В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ
В СЕВЕРНОЙ ПОДЗОНЕ СТЕПИ УКРАИНЫ**

Аннотация. Проведено сравнение показателей водного обмена листьев дуба красного (*Quercus rubra* L.) и дуба обыкновенного (*Quercus robur* L.) в искусственном насаждении и на открытом пространстве. Установлено, что у отдельно растущих деревьев листья *Q. robur* характеризуются преимущественно большей интенсивностью транспирации во все месяцы исследования, меньшей водоудерживающей способностью и большим водным дефицитом, чем листья *Q. rubra*. В насаждении у большинства растений обоих видов испарение воды менее значительное, чем у отдельно растущих деревьев. Показатели водного дефицита листьев *Q. robur* в открытом пространстве превышают таковые у *Q. rubra*, а в насаждении, наоборот, они больше у *Q. rubra*. Для относительной тургоресцентности характерна противоположная закономерность. Полученные результаты можно объяснить более слабой конкурентоспособностью за влагу *Q. rubra* в насаждении. По показателям водного режима *Q. rubra* является достаточно устойчивым видом в условиях засушливого климата степи Украины и по ряду из них не уступает *Q. robur*, что свидетельствует о возможности широкого использования этого интродуцента в искусственных лесных насаждениях и в озеленении населенных пунктов в этой зоне.

Ключевые слова: *Q. rubra*, *Q. robur*, водный режим, транспирация, водоудерживающая способность, водный дефицит, относительная тургоресцентность

Для цитирования: Бессонова, В. П. Показатели водного обмена листьев дуба *Quercus robur* L. и *Quercus rubra* L. в различных условиях произрастания в северной подзоне степи Украины / В. П. Бессонова, А. П. Криворучко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 222–231. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-222-231

V. P. Bessonova, A. P. Kryvoruchko

Dnepropetrovsk State University of Agriculture and Economics, Dnepr, Ukraine

**INDICATORS OF WATER EXCHANGE OF LEAVES OF OAK QUERCUS ROBUR L.
AND QUERCUS RUBRA L. IN VARIOUS GROWING CONDITIONS
IN THE NORTHERN SUBZONE OF THE STEPPE OF UKRAINE**

Abstract. Water metabolism indicators of leaves *Q. robur* and *Q. rubra* in artificial planting and trees at a distance from him was compared. Found that the leaves *Q. robur* of separately growing trees is characterized by predominantly higher intensity of transpiration in all months of the study than *Q. rubra*. Planting both types in the vast majority of measurements of water evaporation is less significant than in the separately growing trees in a clearing. Noted that in September, the figures of evaporation of water is the highest relative to the previous time of measurement. Was observed the fall of this indicator in the hottest period of the day, as in July, indicating deterioration of the water loss regulation. The *Q. robur* leaf water deficit in plants of open space is bigger than in planting in all studied periods. In *Q. rubra*, the figure bigger in the planting. A comparison of leaves water deficit both species separately growing trees indicates that it is smaller in *Q. rubra* than in *Q. robur*, it is consistent with a more intense return of water by *Q. robur* leaves. But planting despite more intense transpiration and lower water-holding capacity from *Q. robur* has conversely situation. During all periods of the study water-storage capacity is higher in the *Q. rubra* leaves than in *Q. robur*. However, the relative turgescence in *Q. robur* leaves the highest in the plantations, in *Q. rubra* this figure the biggest in separately growing trees, which can be explained by the fact that this indicator depends not only from evaporation, but also to a large extent on the flow of water through the root system.

Keywords: *Q. rubra*, *Q. robur*, water regime, transpiration, water-storage capacity, water deficit, relative turgescence

For citation: Bessonova V. P., Kryvoruchko A. P. Indicators of water exchange of leaves of oak *Quercus robur* L. and *Quercus rubra* L. in various growing conditions in the northern subzone of the steppe of Ukraine. *Vesti Natsyyanal'nai akademii nauk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 222–231 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-222-231

Введение. Ключевыми проблемами при изучении вопросов лесонасаждения в условиях украинской степи являются такие, как сохранение и поддержание лесных ландшафтов, их биологического разнообразия, экологизация системы ведения лесного хозяйства. Степное лесоразведение и сейчас остается одним из национальных приоритетов Украины [1]. В лесных насаждениях степи Украины широко используются интродуцированные виды растений, которые часто проявляют более высокую устойчивость к климатическим условиям, чем аборигенные [2, 3].

Большой интерес представляет возможность использования для лесоразведения и озеленения городских территорий растений вида *Quercus rubra* L. (родина Северная Америка), широко применяемых в искусственных лесных насаждениях в Западной Украине [4, 5], Беларуси [6], России [7]. Степная зона Украины характеризуется континентальным климатом, высокими температурами летом и малым количеством годовых осадков (300–450 мм) [8], поэтому этот вид в лесокультурах почти не встречается, а его эколого-физиологические особенности в данных условиях не изучены.

Успешность использования любого интродуцированного вида зависит от засухоустойчивости, которая в значительной степени определяется спецификой водного режима [9]. В условиях ограниченного водоснабжения наиболее продуктивными являются те растения, которые способны поддерживать стабильность водного баланса. Это имеет решающее значение для жизнедеятельности растений [10], поскольку водоснабжение растений влияет на ход всех физиологических процессов [11–15].

Одни исследователи считают, что критерием, позволяющим выявить устойчивость растений к засухе, в том числе на фоне других неблагоприятных факторов, является водный дефицит [16–18], другие предполагают, что такими критериями являются интенсивность транспирации [19–25], водоудерживающая способность [12, 13, 26], а также осмотическое регулирование, с помощью которого растение задерживает воду и выживает в стрессовых условиях [27]. Объективные сведения о реакции растений на недостаточное водоснабжение в условиях засушливого климата можно получить с помощью ряда показателей, всесторонне характеризующих водный режим.

Цель данной работы – сравнение показателей водного режима листьев интродуцента *Quercus rubra* L. и аборигенного вида *Quercus robur* L. в искусственном насаждении в условиях северо-степной подзоны Украины.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования были 10-летние растения дуба красного (*Quercus rubra* L.) и дуба обыкновенного (*Quercus robur* L.), растущие на экспериментальном участке площадью 1,6 га Ленинского лесничества Днепропетровской области. Древостой участка 7ДчЗДз.

Показатели водного режима листьев определяли у одиноко стоящих деревьев, которые росли на открытом пространстве, и у деревьев во внешнем ряду насаждения, расстояние между которыми составляло 2,5 м. Кроны деревьев несомкнутые, хорошо освещенные.

С целью получения однородного материала для исследований с 5 модельных деревьев срывали второй и третий листы в основании однолетних побегов с юго-восточной стороны и в средней части кроны. Интенсивность транспирации листьев определяли методом быстрого взвешивания на электронных весах ТВЕ-0,21-0,001 с экспонированием на рассеянном свете в течение 5 мин. Водоудерживающую способность определяли путем учета потери влаги через 30, 60 и 120 мин по А. А. Арланду и выражали в процентах к общему ее содержанию, водный дефицит и относительную тургоресцентность – после насыщения высечек листа водой. Для установления степени открытия устьиц использовали метод отпечатков Г. Х. Молотковского [28]. Измерения осуществляли окуляр-микрометром, используя микроскоп «Биомед-4». Снимки делали с помощью фотокамеры (Digital Camera for Microscope DCM 130). Одновременно с отбором проб определяли температуру и влажность воздуха электронным термогигрометром ТА308. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2010.

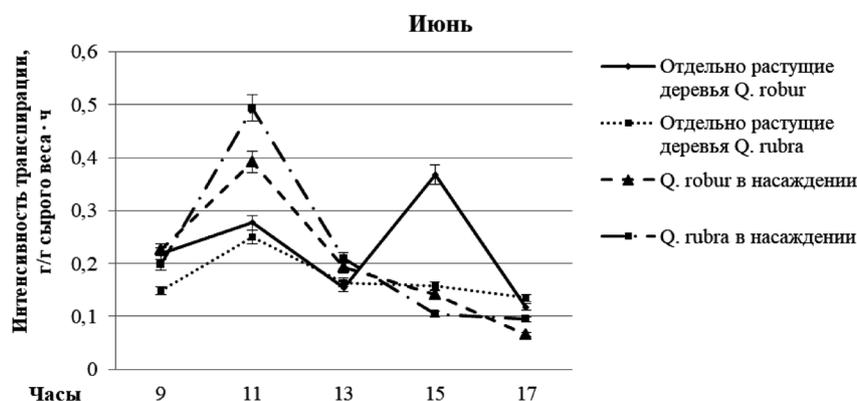
Результаты и их обсуждение. Установлено, что в июне у одиночных растений *Q. robur*, которые растут на расстоянии от насаждения, интенсивность транспирации листьев представлена кривой с двумя максимумами: первый приходится на 11.00 со снижением интенсивности испарения воды в 13.00 в 1,8 раза; второй, более значительный, – на 15.00. Дневной ход транспирации

в *Q. rubra* имеет несколько иной характер. Наибольшее испарение воды листьями этого вида наблюдается в 11.00, потом оно резко падает (в 1,5 раза) с последующим медленным снижением (рис. 1). У *Q. robur* потеря воды в процессе транспирации более значительная.

У деревьев, растущих в насаждении, показатели транспирации листьев отличаются от таковых у деревьев открытого пространства. У обоих видов интенсивность испарения влаги листьями в насаждении с утра до 13.00 выше, чем у одиночных деревьев, а в последующие часы измерения (15.00 и 17.00) этот показатель становится значительно меньше у растений в насаждении (рис. 1).

Таким образом, интенсивность транспирации листьев как отдельно растущих деревьев, так и деревьев в насаждении выше у *Q. robur*, чем у *Q. rubra*.

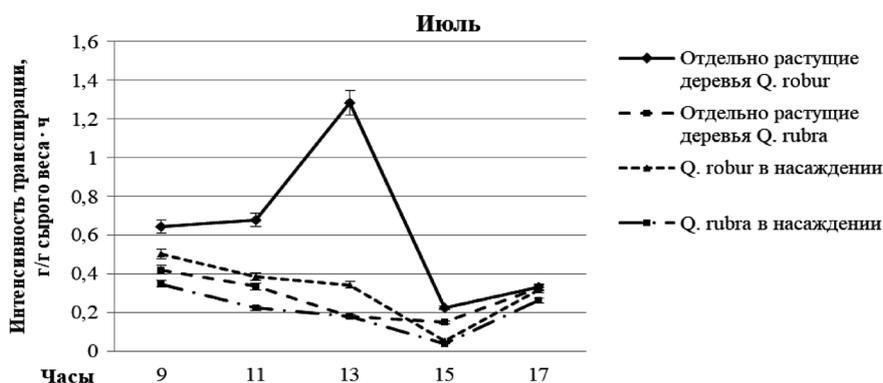
В июле у деревьев *Q. robur* открытого пространства ход транспирационного процесса выражается кривой с наиболее высоким показателем в 13.00, его последующим крутым спадом (в 5,73 раза) в 15.00 и новым незначительным повышением в 17.00. У *Q. rubra* максимальное испарение отмечается утром (в 9.00), далее значения постепенно снижаются до 15.00 с последующим подъемом, как и у *Q. robur*, в 17.00 (рис. 2).



Показатель	Отдельно растущие деревья					Деревья в насаждении				
	24	30	32	34	30	23	26	27	28	28
Температура, °С										
Влажность воздуха, %	50	35	25	25	27	53	39	32	28	35
Время проведения измерений, ч	9	11	13	15	17	9	11	13	15	17

Рис. 1. Интенсивность транспирации листьев *Q. robur* и *Q. rubra* в июне

Fig. 1. The intensity of *Q. robur* and *Q. rubra* leaves transpiration in June



Показатель	Отдельно растущие деревья					Деревья в насаждении				
	24	32	36	35	31	24	30	32	34	30
Температура, °С										
Влажность воздуха, %	41	29	25	21	23	50	35	28	25	30
Время проведения измерений, ч	9	11	13	15	17	9	11	13	15	17

Рис. 2. Интенсивность транспирации листьев *Q. robur* и *Q. rubra* в июле

Fig. 2. The intensity of *Q. robur* and *Q. rubra* leaves transpiration in July

В насаждении наблюдается одинаковая динамика процесса транспирации у обоих видов. Существенное она в 9.00, затем происходит постепенное падение с минимумом в 15.00 и последующим ростом в 17.00.

В насаждении дневная потеря влаги листьями у *Q. robur* ниже, чем у растений, растущих на открытом пространстве (в 1,8 и 3,7 раза соответственно), особенно в 11.00 и 13.00. У *Q. rubra* наблюдается такая же закономерность, однако в 13.00 интенсивность транспирации одинакова в обоих вариантах опыта, во все другие часы измерения, как и у *Q. robur*, она ниже в насаждении (рис. 2). Сравнение интенсивности транспирации листьев двух видов дуба свидетельствует о более высоких показателях этого процесса у *Q. robur*.

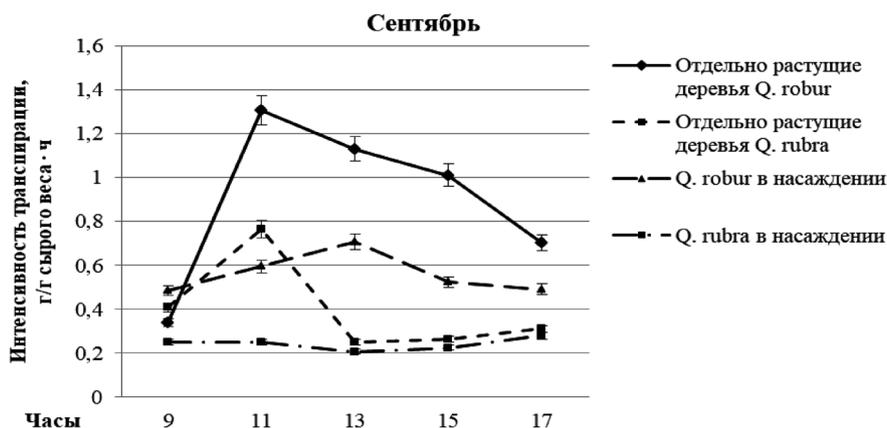
Интенсивность транспирации у обоих видов в июле по сравнению с июнем больше, особенно у *Q. robur*, что коррелирует с более высокой температурой и относительно низкой влажностью воздуха. Известно, что уровень испарения пропорционален дефициту влажности в атмосфере [27]. Другие авторы также отмечают, что при повышении температуры в определенных пределах увеличиваются затраты воды на транспирацию [15, 29–32].

В сентябре у растений открытого пространства максимум транспирации приходится у обоих видов на 11.00. Если в июле в самые жаркие часы (15.00) испарение воды листьями растений *Q. robur* значительно уменьшается, что свидетельствует о регулировании процесса транспирации, то в сентябре очень высокие показатели транспирации установлены как в полуденные, так и в послеполуденные часы (рис. 3).

Иначе реагирует на такие высокие температуры *Q. rubra*. У листьев этого вида после уменьшения данного показателя в 3,06 раза в 13.00 по сравнению с таковым в 9.00 интенсивность испарения воды статистически достоверно повышается в 17.00. У растений *Q. rubra*, растущих в насаждении, процесс транспирации протекает менее интенсивно, чем на открытом участке. У *Q. robur*, кроме утреннего часа (9.00), транспирация происходит менее интенсивно, а ее максимум сдвигается на 13.00. В насаждении, как и у отдельно растущих деревьев, большая интенсивность транспирации установлена у *Q. robur*, чем у *Q. rubra*.

В сентябре, несмотря на засушливую погоду и дальнейшее уменьшение запасов влаги в почве, отмечен рост интенсивности транспирации у листьев обоих видов дуба. В этот период показатели испарения воды более высокие, чем в предыдущие сроки измерения. Не наблюдается падения этого показателя в самый жаркий период дня, как в июле, что свидетельствует об ухудшении регулирования потери воды.

Н. А. Хлебникова, Н. И. Маркова [33] также указывают на отсутствие снижения интенсивности транспирации в самый жаркий период дня и отмечают значительный подъем кривой



Показатель	Отдельно растущие деревья					Деревья в насаждении				
	25	35	38	37	33	25	31	34	35	30
Температура, °С										
Влажность воздуха, %	39	27	23	19	21	44	33	25	23	26
Время проведения измерений, ч	9	11	13	15	17	9	11	13	15	17

Рис. 3. Интенсивность транспирации листьев *Q. robur* и *Q. rubra* в сентябре

Fig. 3. The intensity of *Q. robur* and *Q. rubra* leaves transpiration in September

транспирации при высоких температурах, близких к максимальным (выше 35 °С), у древесных пород вяза мелколистного, клена ясенелистного и лоха узколистного, сопровождающийся некоторой потерей устьичного регулирования транспирации и широким открытием устьиц, которое приводит к значительному повышению испарения влаги. М. А. Максимов [34] пришел к выводу, что широкое открытие устьиц под воздействием слишком высоких температур воздуха – явление патологическое и возможно только в особых условиях. Изучение нами дневного состояния устьиц также показало их широкое открытие у *Q. robur* даже в самые жаркие часы дня (13.00, 15.00), в то время как у *Q. rubra* степень открытия устьиц была значительно меньше (рис. 4).

Большие потери влаги листьями *Q. robur* при высоких температурах возможны и через кутикулу, хотя они в 9–10 раз меньше, чем потери влаги через устьица. В. Лархер [35], рассчитав потери воды срезанными листьями после закрытия устьиц (кутикулярная транспирация), установил, что у *Q. robur* ее потери составляют 110 мг/дм²·ч, в то время как у *Q. pubescens* – 40, у *Q. ilex* – 15, а у *Pinus sylvestris* – 13 мг/дм²·ч. Итак, *Q. robur* характеризуется значительно большими потерями воды через кутикулу, чем многие другие виды.

Однако необходимо учитывать, что испарение воды в условиях действия на растения таких высоких температур имеет и положительное значение, поскольку охлаждается поверхность листа. В то же время при закрытии устьиц хотя и уменьшаются потери воды, но повышается температура листа, что вызывает стресс и угнетение его роста [36].

Таким образом, интенсивность транспирации у листьев *Q. robur* преимущественно больше, чем у *Q. rubra*. В подавляющем большинстве измерений испарение воды у обоих видов в насаждении менее значительное, чем у отдельно растущих деревьев, что объясняется более высокой влажностью и меньшей температурой воздуха.

Величина водоудерживающей способности растений играет значительную роль в регулировании их водообмена. Как видно из табл. 1, потеря воды (в процентах к исходной массе) у растений открытого пространства в июне относительно небольшая у обоих видов, однако у *Q. robur* она выше, составляя через 30, 60 и 120 мин 256,5; 175,4 и 171,3 % от показателей потери воды у *Q. rubra* (рис. 5). Для растений в насаждении выявлена такая же закономерность. Аналогичная картина наблюдается и в другие сроки проведения исследований.

В июне водоудерживающая способность листьев обоих видов у растений в насаждении меньше, чем у растений открытого местообитания (табл. 1). В июле и сентябре этот показатель у листьев *Q. robur* больше в насаждении, количество потерянной воды высечками листьев после всех сроков их экспозиции (30, 60 и 120 мин) на воздухе значительно меньше, чем у образцов, отобранных с отдельно растущих деревьев. У листьев *Q. rubra* водоудерживающая способность в июле, как и в июне, больше у растений открытого пространства, а в сентябре – в насаждении, хотя различия между данными при различных условиях роста этого вида незначительные. Диапазон водного дефицита у листьев *Q. robur* открытого пространства составлял в пределах 29,9 %, в насаждении – 19,1 %, у *Q. rubra* – 10,9 и 12,37 % соответственно. Во все сроки исследования водоудерживающая способность выше у листьев *Q. rubra*, чем у листьев *Q. robur* (рис. 5).

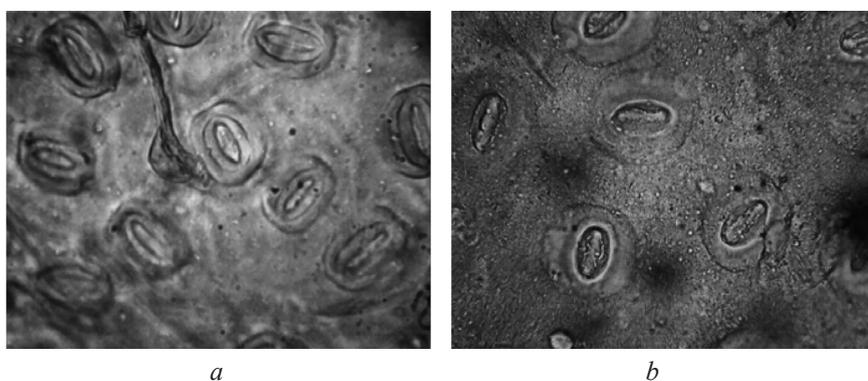


Рис. 4. Степень открытости устьиц нижнего эпидермиса листьев *Q. rubra* (a) и *Q. robur* (b). ×1000

Fig. 4. The opening degree stomata of leaf lower epidermis of *Q. rubra* (a) and *Q. robur* (b). ×1000

Таблица 1. Водоудерживающая способность листьев *Q. rubra* и *Q. robur*, потери ими воды (в % к начальной массе)

Table 1. Water-retaining capacity of *Q. rubra* and *Q. robur* leaves, loss of water (in % to original mass)

Вариант	Потери воды					
	через 30 мин	t_{ϕ}	через 60 мин	t_{ϕ}	через 120 мин	t_{ϕ}
12 июня						
Отдельные деревья:						
<i>Q. robur</i>	3,13 ± 0,27	5,88	6,35 ± 0,50	4,60	9,42 ± 0,76	3,92
<i>Q. rubra</i>	1,22 ± 0,18		3,62 ± 0,32		5,50 ± 0,22	
Деревья в насаждении:						
<i>Q. robur</i>	4,14 ± 0,33	2,72	8,70 ± 0,46	6,00	14,54 ± 1,22	5,50
<i>Q. rubra</i>	3,13 ± 0,17		5,33 ± 0,32		7,59 ± 0,30	
27 июля						
Отдельные деревья:						
<i>Q. robur</i>	13,02 ± 1,42	6,27	20,60 ± 1,05	8,49	25,42 ± 1,10	9,62
<i>Q. rubra</i>	3,93 ± 0,29		7,38 ± 1,15		10,99 ± 1,02	
Деревья в насаждении:						
<i>Q. robur</i>	9,61 ± 0,82	4,84	16,14 ± 1,12	6,40	19,66 ± 1,33	4,14
<i>Q. rubra</i>	5,49 ± 0,23		8,64 ± 0,34		12,37 ± 1,15	
5 сентября						
Отдельные деревья:						
<i>Q. robur</i>	18,32 ± 1,11	11,03	27,90 ± 1,17	14,75	29,93 ± 0,90	16,80
<i>Q. rubra</i>	5,86 ± 0,21		8,57 ± 0,59		9,48 ± 0,82	
Деревья в насаждении:						
<i>Q. robur</i>	7,15 ± 0,41	7,60	13,35 ± 0,90	7,01	16,15 ± 1,56	5,00
<i>Q. rubra</i>	3,50 ± 0,25		6,36 ± 0,43		7,78 ± 0,62	

Примечание. Здесь и в табл. 2 t_{ϕ} – критерий Стьюдента; разница между вариантами достоверна при $p \leq 0,05$ ($t_{\phi} = 2,776$).

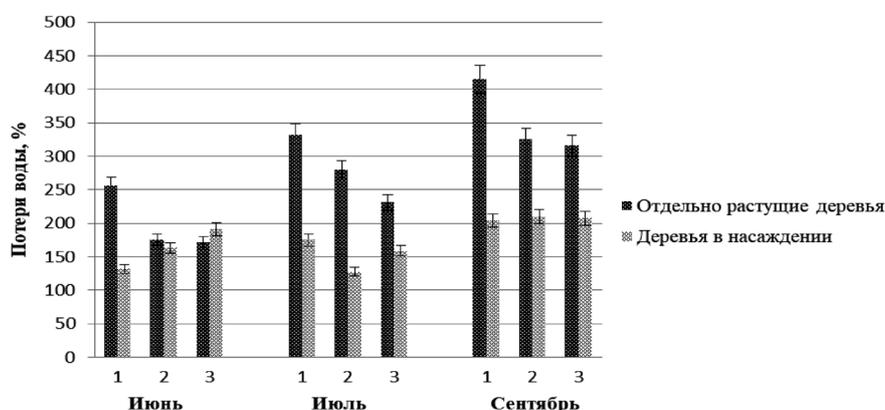


Рис. 5. Потеря воды листьями дуба обыкновенного относительно ее потери листьями дуба красного: 1 – через 30 мин, 2 – через 60 мин; 3 – через 120 мин

Fig. 5. Water loss by oak leaves relative to its loss by red oak leaves: 1 – 30 min; 2 – 60 min; 3 – 120 min

Водный дефицит в листьях проявляется с момента некомпенсированной отдачи ими воды, когда поглощение ее корнями отстает от интенсивности транспирации [37]. От степени выраженности водного дефицита зависит устойчивость как отдельных деревьев, так и насаждения в целом. У *Q. robur* водный дефицит листьев во все исследуемые сроки больше у растений в открытом пространстве, чем в насаждении. У *Q. rubra* этот показатель, наоборот, больше в насаждении (см. табл. 2). Сравнение показателя водного дефицита листьев обоих видов у отдельно растущих деревьев свидетельствует, что он меньше у *Q. rubra*, чем у *Q. robur*, что согласуется с более интенсивной отдачей листьями последнего влаги, но в насаждении наблюдается противоположная картина, несмотря на более интенсивную транспирацию и меньшую водоудерживающую способность у *Q. robur*.

Соотношение между поступлением воды в растения и расходом ее на процесс транспирации влияет на относительную тургоресцентность [15], которая во многом определяет процессы роста, поскольку скорость растяжения клеточных стенок является функцией тургорного давления [38, 39].

Как видно из табл. 2, относительная тургоресцентность листьев *Q. robur* больше в насаждении, а листьев *Q. rubra* – у отдельно растущих деревьев. Полученные результаты можно объяснить тем, что данный показатель зависит не только от испарения, но и в значительной степени от поступления воды через корневую систему [40]. Возможно, в насаждении *Q. rubra* хуже конкурирует за влагу в почве, чем *Q. robur*.

Таблица 2. Водный дефицит и относительная тургоресцентность листьев *Q. rubra* и *Q. Robur*

Table 2. Water deficiency and relative turbidity of leaves *Q. rubra* and *Q. Robur*

Вариант	Дефицит влаги, %	<i>t</i>	Относительная тургоресцентность
12 июня			
Отдельные деревья:			
<i>Q. robur</i>	17,11 ± 1,02	4,31	82,89
<i>Q. rubra</i>	11,49 ± 0,81		88,51
Деревья в насаждении:			
<i>Q. robur</i>	11,39 ± 1,26	4,85	88,61
<i>Q. rubra</i>	18,76 ± 0,85		81,24
27 июля			
Отдельные деревья:			
<i>Q. robur</i>	25,78 ± 1,03	6,81	74,22
<i>Q. rubra</i>	16,09 ± 0,98		83,91
Деревья в насаждении:			
<i>Q. robur</i>	13,80 ± 1,18	4,39	86,20
<i>Q. rubra</i>	20,24 ± 0,87		79,76
5 сентября			
Отдельные деревья:			
<i>Q. robur</i>	18,71 ± 0,67	3,11	81,29
<i>Q. rubra</i>	15,37 ± 0,84		84,63
Деревья в насаждении:			
<i>Q. robur</i>	14,87 ± 0,98	4,74	85,13
<i>Q. rubra</i>	22,00 ± 1,14		77,00

Заключение. В июне интенсивность транспирации в первой половине дня больше у *Q. robur* и *Q. rubra*, растущих в насаждении, во второй половине дня – у отдельно растущих деревьев *Q. robur*. В июле и сентябре в условиях высоких температур и меньшей влажности воздуха потери воды в процессе транспирации выше у растений открытого пространства. Интенсивность транспирации выше у листьев *Q. robur* как в насаждении, так и у отдельно растущих деревьев, и только в июне в первой половине дня в насаждении этот показатель больше у *Q. rubra*, чем у *Q. robur*.

Величина водоудерживающей способности значительно выше у листьев *Q. rubra*, чем у листьев *Q. robur*, как у отдельно растущих растений, так и в насаждении.

Показатели водного дефицита листьев у *Q. robur* открытого пространства превышают таковые у *Q. rubra*, а в насаждении, наоборот, они больше у *Q. rubra*. Противоположная закономерность характерна для относительной тургоресцентности. Такие результаты можно объяснить более слабой конкурентоспособностью за влагу *Q. rubra* в насаждении. По показателям водного режима *Q. rubra* является достаточно устойчивым видом в условиях засушливого климата степи Украины и по ряду из них не уступает *Q. robur*, что свидетельствует о возможности широкого использования этого интродуцента в лесоразведении и озеленении населенных пунктов в этой зоне.

Список использованных источников

1. Фурдичко, О. І. Ліс у Степу: основи сталого розвитку / О. І. Фурдичко, Г. Б. Гладун, В. В. Лавров. – Київ : Основа, 2006. – 496 с.
2. Защитное лесоразведение в СССР / Б. А. Абакумов [и др.]; под ред. Е. С. Павловского. – М. : Агропромиздат, 1986. – 263 с.

3. Горейко, В. А. Теория и практика защитного лесоразведения в условиях степного Приднепровья / В. А. Горейко. – Днепропетровск : Пороги, 1996. – 228 с.
4. Івченко, А. І. Історія впровадження дуба червоного / А. І. Івченко // Науковий вісник : зб. наук.-техн. праць Укр. держ. лісотехн. ун-ту. – 2002. – Вип. 12.4. – С. 93–97.
5. Майборода, В. А. Поширення та особливості формування вікової структури насаджень дуба червоного бореального в Україні / В. А. Майборода // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – 2011. – Вип. 21.3. – С. 31–37.
6. Гвоздев, В. К. Особенности роста и продуктивность насаждений искусственного происхождения местных и интродуцированных древесных видов / В. К. Гвоздев, А. А. Хохлов // Тр. Белорус. гос. технол. ун-та. – 2016. – № 1. – С. 106–109.
7. Дубовицкая, О. Ю. Перспективы расширения устойчивого ассортимента древесных растений для ландшафтного строительства с использованием североамериканских интродуцентов [Электронный ресурс] / О. Ю. Дубовицкая, Л. И. Масалова // Соврем. садоводство. – 2013. – № 4. – Режим доступа : <http://www.journal.vniispk.ru/pdf/2013/4/10.pdf>. – Дата доступа : 12.12.2017.
8. Горб, А. С. Клімат Дніпропетровської області / А. С. Горб. – Дніпропетровськ : Вид-во Дніпропетр. нац. ун-ту, 2006. – 204 с.
9. Петухова, И. П. Эколого-физиологические основы интродукции древесных растений / И. П. Петухова. – М. : Наука, 1981. – 124 с.
10. Генкель, П. А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений / П. А. Генкель. – М. : Наука, 1982. – 280 с.
11. Жолкевич, В. Н. Энергетика дыхания высших растений в условиях водного дефицита / В. Н. Жолкевич. – М. : Наука, 1968. – 210 с.
12. Кушниренко, М. Д. Зависимость водоудерживающей способности и содержания пигментов в листьях плодовых растений от условий увлажнения / М. Д. Кушниренко, Т. Н. Медведова // Водный режим сельскохозяйственных растений : сб. ст. / отв. ред. Н. С. Петин. – М., 1969. – С. 322–332.
13. Гриненко, В. В. Значение регуляции водного баланса у растений в приспособлении и устойчивости их к природным условиям / В. В. Гриненко // Состояние воды и водный обмен культурных растений : сб. ст. / отв. ред. Н. С. Петин. – М., 1971. – С. 12–130.
14. Шматько, И. Г. Устойчивость растений к водному и температурному стрессам / И. Г. Шматько, И. А. Григорюк, О. Е. Шведова. – Київ : Наук. думка, 1989. – 224 с.
15. Григорюк, І. П. Водний і високотемпературний стреси. Молекулярні та фізіологічні механізми стійкості рослин / І. П. Григорюк, М. М. Мусієнко // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть : у 2 т. / голов. ред. В. В. Моргун. – Київ, 2001. – Т. 2. – С. 118–129.
16. Бессонова, В. П. Некоторые особенности водного режима акации белой, произрастающей в разных условиях увлажнения / В. П. Бессонова, А. И. Корытова, О. Ф. Михайлов // Вопросы степного лесоведения и охраны природы : сб. науч. ст. / Днепропетр. гос. ун-т. – Днепропетровск, 1975. – Вып. 5. – С. 136–142.
17. Нестерова, Н. Г. Особливості водного режиму деревних видів рослин в екологічних умовах м. Київ / Н. Г. Нестерова, І. П. Григорюк // Збалансоване природокористування. – 2013. – № 2–3. – С. 89–95.
18. Ганиятулин, Р. Х. Водный дефицит древесных растений в различных экологических условиях / Р. Х. Ганиятулин, А. Ю. Кулагин // Изв. Саратов. ун-та. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2015. – Т. 15, № 3. – С. 57–64.
19. Иванов, А. А. О транспирации полезных пород в условиях Деркульской степи / А. А. Иванов, Ю. Л. Силина, Ю. Л. Цельникер // Ботан. журн. – 1952. – Т. 37, № 2. – С. 113–138.
20. Хлебникова, Н. А. Изучение сосущей силы растений в связи с режимом влажности и засолением почвы / Н. А. Хлебникова // Физиологические основы роста древесных растений : сб. ст. / отв. ред. Л. А. Иванов. – М., 1960. – С. 56–71.
21. Образцова, В. И. О транспирации и оводненности листьев древесных пород в различных типах искусственных лесных насаждений в степи / В. И. Образцова // Искусственные леса степной зоны Украины : сб. ст. / редкол. : Г. Б. Мельников (пред.) [и др.]. – Харьков, 1960. – С. 215–224.
22. Поспелова, Ю. С. Использование показателя водоудерживающей способности тканей для устойчивости сортов винограда к изменению природных факторов / Ю. С. Поспелова // Состояние воды и водный обмен у культурных растений : сб. ст. / отв. ред. Н. С. Петин. – М., 1971. – С. 246–250.
23. Transpiration of a boreal pine forest measured by branch bag, sapflow and micrometeorological methods / B. Saugier [et al.] // Tree Physiology. – 1997. – Vol. 17, N 8–9. – P. 511–519.
24. Transpiration and whole-tree conductance in ponderosa pine trees of different heights / M. G. Ryan [et al.] // Oecologia. – 2000. – Vol. 124, N 4. – P. 553–560.
25. Горохова, С. В. Интенсивность транспирации у некоторых представителей рода *Corylus* L. / С. В. Горохова // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2011. – Т. 14, № 3–1 (98). – С. 248–253.
26. Кузнецова, Т. А. Особенности адаптации растений *Padus racemosa* L. в различных климатических условиях / Т. А. Кузнецова, В. Н. Сорокопудов, Ю. В. Юшин // Изв. высш. учеб. заведений. Поволж. регион. Естеств. науки. – 2015. – № 3 (11). – С. 23–31.
27. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях / Е. Л. Кордюм [и др.] ; под ред. Е. Л. Кордюм. – Киев : Наук. думка, 2003. – 277 с.
28. Бессонова, В. П. Практикум з фізіології рослин / В. П. Бессонова. – Дніпропетровськ : Дніпропетр. держ. аграр. ун-т., 2006. – 316 с.
29. Мушинская, О. А. Транспирация как основная часть водного режима растений и ее у видов рода *Populus* L. / О. А. Мушинская // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. – 2007. – № 6. – С. 95–99.

30. Peet, M. M. Physiological and anatomical effects of growth temperature on *Phaseolus vulgaris* / M. M. Peet, J. L. Ozbun, D. H. Wallace // *J. of Experimental Botany*. – 1977. – Vol. 28, N 1. – P. 52–69.
31. Miller, D. The two-dimensional energy budget of a forest edge with field measurements at a forest-parking lot interface / D. Miller // *Agr. Meteorology*. – 1980. – Vol. 22, N 1. – P. 53–78.
32. Turner, N. The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content / N. Turner, E. Schullze, T. Gollant // *Oecologia*. – 1984. – Vol. 63, N 3. – P. 338–342.
33. Хлебникова, Н. А. Водный режим, продуктивность транспирации и усвоение углекислоты древесными породами в условиях Прикаспийской низменности / Н. А. Хлебникова, М. И. Маркова // *Тр. Ин-та леса*. – 1955. – Т. 27. – С. 46–72.
34. Максимов, Н. А. Избранные работы по засухоустойчивости и зимостойкости растений: в 2 т. / Н. А. Максимов. – М. : Изд-во Акад. наук СССР, 1952. – Т. 1 : Водный режим и засухоустойчивость растений. – 576 с.
35. Лархер, В. А. Экология растений / В. А. Лархер. – М. : Мир, 1978. – 384 с.
36. Kjelgren, R. Urban tree transpiration over turf and asphalt surface / R. Kjelgren, T. Montague // *Atmospheric Environment*. – 1998. – Vol. 32, N 1. – P. 35–41.
37. Пахомова, Г. И. Водный режим растений / Г. И. Пахомова, Г. И. Безуглов. – Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1980. – 252 с.
38. Полевой, В. В. Физиология роста и развития растений / В. В. Полевой, Т. С. Саламатова. – Л. : Изд-во Ленинград. гос. ун-та, 1991. – 240 с.
39. Ray, P. M. Role of turgor in plant cell growth / P. M. Ray, P. B. Green, R. E. Cleland // *Nature*. – 1972. – Vol. 239, N 5368. – P. 163–164.
40. Emmert, F. H. Inhibition of phosphorus and water passage across intact roots by polyethylene glycol and phenylmercuric acetate / F. H. Emmert // *Plant Physiology*. – 1974. – Vol. 53, N 4. – P. 663–665.

References

1. Furdychko O., Hladun H., Lavrov V. *Wood in the desert: the foundations of sustainable development*. Kiev, Osnova Publ., 2006. 496 p. (in Ukrainian).
2. Pavlovski E. (ed.). *Protective afforestation in the USSR*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1986. 263 p. (in Russian).
3. Goreyko V. *Theory and practice of protective afforestation in the conditions of the steppe Dnieper*. Dnepropetrovsk, Porogi Publ., 1996. 263 p. (in Russian).
4. Ivchenko A. The history of the introduction of red oak. *Naukovii visnik: zbornik naukovo-tekhnichnikh prats' Ukrain's'kogo derzhavnogo lisotekhnichnogo universitetu* [Scientific Bulletin: a collection of scientific and technical papers of the Ukrainian State Forestry University]. 2002, Iss. 12.4, pp. 93–97 (in Ukrainian).
5. Majboroda V. Distribution and features of formation of the age structure of boreal red oak stands in the Ukraine. *Naukovii visnik NLTU Ukraini: zbornik naukovo-tekhnichnikh prats' = Scientific Bulletin of UNFU of Ukraine*, 2011, Iss. 21.3, pp. 31–37 (in Ukrainian).
6. Gvozdev V., Khokhlov A. Growth peculiarities and plantings productivity of artificial origin local and introduced tree species. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta = Proceedings of the Belarusian State Technological University*, 2016, no. 1, pp. 106–109 (in Russian).
7. Dubovitskaya O., Masalova L. Prospects for expanding the sustainable range of woody plants for landscape construction using North American introducers. *Sovremennoe sadovodstvo = Contemporary Horticulture*, 2013, no. 4. Available at: <http://www.journal.vniispk.ru/pdf/2013/4/10.pdf> (accessed 12.12.2017) (in Russian).
8. Horb A. *Climate of Dnipropetrovsk region*. Dnipropetrovsk, Dnepropetrovsk National University Publ., 2006. 204 p. (in Ukrainian).
9. Petukhova I. *Ecological and physiological basis for the introduction of woody plants*. Moscow, Nauka Publ., 1981. 124 p. (in Russian).
10. Genkel P. *Physiology of heat and drought resistance of plants*, Moscow, Nauka Publ., 1982. 280 p. (in Russian).
11. Zholkevich V. *Energy of respiration of higher plants in conditions of water deficiency*, Moscow, Nauka Publ., 1968. 210 p. (in Russian).
12. Kushnirenko M., Medvedova T. Dependence of water-holding capacity and pigment content in leaves of fruit plants on moisture conditions. *Vodnyi rezhim selskokhozyaystvennykh rastenii: sbornik statei* [Water regime of agricultural plants: a collection of articles]. Moscow, 1969, pp. 322–332 (in Russian).
13. Hrynenko V. The importance of regulation of water balance in plants in adaptation and their resistance to natural conditions. *Sostoyaniye vody y vodnyi obmen kulturnykh rasteniy: sbornik statei* [State of water and water exchange of cultivated plants: a collection of articles]. Moscow, 1971, pp. 124–130 (in Russian).
14. Shmatko I., Grigoryuk I., Shvedova O. *Stability of plants to water and temperature stresses*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1989. 224 p. (in Ukrainian).
15. Hryhoryuk I., Musiyenko M. Water and high temperature stress. The molecular and physiological mechanisms of plant resistance. *Fiziologiya roslyn v Ukraini na mezhi tysyacholit* [Plant Physiology in Ukraine at the turn of the millennium]. Kiev, 2001, vol. 2, pp. 118–129 (in Ukrainian).
16. Bessonova V., Korytova A., Mikhaylov O. Some features of the water regime of false acacia, growing in different conditions of moistening. *Voprosy stepnogo lesovedeniya i okhrany prirody: sbornik nauchnykh statei* [Questions of steppe forest science and nature conservation: a collection of scientific articles]. Dnepropetrovsk, 1975, no. 5, pp. 136–142 (in Russian).
17. Nesterova N., Hryhoryuk I. Features of water regime of woody species in environmental conditions of Kyiv. *Zbalansovane pryrodokorystuvannya* [Sustainable ecosystem exploitation], 2013, no. 2–3, pp. 89–95 (in Ukrainian).

18. Ganiyatulin R., Kulagin A. Water deficiency of woody plants in various environmental conditions. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya* [Bulletin of the Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology Series], 2015, no. 15 (3), pp. 57–64 (in Russian).
19. Ivanov A., Silina Yu., Tselniker Yu. On transpiration of field-protecting species in the conditions of the Derkul steppe. *Botanicheskiy zhurnal* [Botanical Journal], 1952, vol. 37, no. 2, pp. 113–138 (in Russian).
20. Khlebnikova N. The study of the suction power of plants in connection with the regime of humidity and salinity of the soil. *Fiziologicheskie osnovy rosta drevesnykh rastenii: sbornik statei* [Physiological basis of growth of woody plants: a collection of articles]. Moscow, 1960, pp. 56–71 (in Russian).
21. Obraztsova V. On transpiration and watering of leaves of tree species in various types of artificial forest plantations in the steppe. *Iskustvennye lesa stepnoi zony Ukrainy: sbornik statei* [Artificial forests of the steppe zone of Ukraine: a collection of articles]. Kharkiv, 1960, pp. 215–224 (in Russian).
22. Pospelova Yu. The use of the indicator of the water-storage capacity of tissues for the resistance of grape varieties to changes in natural factors. *Sostoyaniye vody i vodnyi obmen u kulturnykh rasteniy: sbornik statei* [The state of water and water exchange in cultivated plants: a collection of articles]. Moscow, 1971, pp. 246–250 (in Russian).
23. Saugier B., Granier A., Pontailier J., Dufrière E., Baldocchi D. Transpiration of a boreal pine forest measured by branch bag, sapflow and micrometeorological methods. *Tree Physiology*, 1997, vol. 17, no. 8–9, pp. 511–519. DOI: 10.1093/treephys/17.8-9.511
24. Ryan M., Bond J., Law E., Hubbard M., Woodruff D., Cienciala E., Kucera J. Transpiration and whole-tree conductance in ponderosa pine trees of different heights. *Oecologia*, 2000, vol. 124, no. 4, pp. 553–560. DOI: 10.1007/s004420000403
25. Gorokhova S. Intensity of transpiration in some representatives of the genus *Corylus* L. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Scientific bulletins of the Belgorod State University. Natural Sciences Series], 2011, vol. 14, no. 3–1 (98), pp. 248–253 (in Russian).
26. Kuznetsova T., Sorokopudov V., Yushin Yu. Peculiarities of adaptation of *Padus racemosa* L. plants in different climatic conditions. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Povolzhskii region. Estestvennye nauki* [Proceedings of higher educational institutions. The Volga region. Natural Sciences], 2015, no. 3 (11), pp. 23–31 (in Russian).
27. Kordyum E. L. (ed.). *Cellular mechanisms of plant adaptation to adverse effects of environmental factors in natural conditions*. Kiev, Naukova dumka Publ., 2003. 277 p. (in Russian).
28. Bessonova V. P. *Laboratory course of Plant Physiology*. Dnepropetrovsk, Dnipropetrovsk State Agrarian University Publ., 2006. 316 p. (in Ukrainian).
29. Mushinskaya O. Transpiration as the main part of the water regime of plants and its species in the genus *Populus* L. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta* [Bulletin of the Orenburg State University], 2007, no. 6, pp. 95–99 (in Russian).
30. Peet M., Ozbun J., Wallace D. Physiological and anatomical effects of growth temperature on *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Experimental Botany*, 1977, vol. 28, no. 1, pp. 52–69. DOI: 10.1093/jxb/28.1.57
31. Miller D. The two-dimensional energy budget of a forest edge with field measurements at a forest-parking lot interface. *Agricultural Meteorology*, 1980, vol. 22, no. 1, pp. 53–78. DOI: 10.1016/0002-1571(80)90028-x
32. Turner N., Schullze E., Gollant T. The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content. *Oecologia*, 1984, vol. 63, no. 3, pp. 338–342. DOI: 10.1007/bf00390662
33. Khlebnikova N., Markova M. Water regime, productivity of transpiration and assimilation of carbon dioxide by wood species in the conditions of the Caspian lowland. *Trudy Instituta lesa* [Proceedings of Forest University], 1955, vol. 27, pp. 46–72 (in Russian).
34. Maksimov N. A. *Selected works on drought tolerance and winter hardiness of plants. Vol. 1. Water regime and drought resistance of plants*. Moscow, Academy of Sciences of the USSR Publ., 1952. 576 p. (in Russian).
35. Larkher V. *Ecology of plants*. Moscow, Mir Publ., 1978. 384 p. (in Russian).
36. Kjelgren R., Montague T. Urban tree transpiration over turf and asphalt surface. *Atmospheric Environment*, 1998, vol. 32, no. 1, pp. 35–41. DOI: 10.1016/s1352-2310(97)00177-5
37. Pakhomova G., Bezuglov G. *Water regime of plants*. Kazan, Kazan University Publ., 1980. 252 p. (in Russian).
38. Polevoy V., Salamatova T. *Physiology of plant growth and development*. Leningrad, Leningrad State University Publ., 1991. 240 p. (in Russian).
39. Ray P., Green P., Cleland R. Role of turgor in plant cell growth. *Nature*, 1972, vol. 239, no. 5368, pp. 163–164. DOI: 10.1038/239163a0
40. Emmert F. H. Inhibition of phosphorus and water passage across intact roots by polyethylene glycol and phenylmercuric acetate. *Plant Physiology*, 1974, vol. 53, no. 4, pp. 663–665. DOI: 10.1104/pp.53.4.663

Інформація об авторах

Бессонова Валентина Петровна – д-р біол. наук, професор, завідувач кафедри. Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет (ул. С. Ефремова, 25, 49600, г. Дніпр, Україна). E-mail: spg.dsaeu@gmail.com.

Криворучко Анастасія Петровна – аспірант. Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет (ул. С. Ефремова, 25, 49600, г. Дніпр, Україна). E-mail: uspeshna18@gmail.com.

Information about the authors

Valentina P. Bessonova – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Dnepropetrovsk State University of Agriculture and Economics (25, S. Efremov Str., 49600, Dnpr, Ukraine). E-mail: spg.dsaeu@gmail.com.

Anastasya P. Krivoruchko – Postgraduate student. Dnepropetrovsk State University of Agriculture and Economics (25, S. Efremov Str., 49600, Dnpr, Ukraine). E-mail: uspeshna18@gmail.com.

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 577.3; 577.113.8
DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-232-244

Поступила в редакцию 13.12.2017
Received 13.12.2017

В. М. Абашкин, О. Г. Дмитрук, Д. Г. Щербин

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**МАЛЫЕ НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК:
БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ И БИМЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

Аннотация. Малые некодирующие РНК (мнРНК) – короткие РНК, участвующие в регуляции экспрессии генов, иммунитете клетки и посттранскрипционных модификациях РНК. Среди всего разнообразия мнРНК наибольший интерес в плане биомедицинского применения представляют три класса малых РНК: малые интерферирующие РНК (миРНК), микроРНК и piwi-interacting РНК (пиРНК).

МиРНК и микроРНК схожи по функциям и механизму действия: их главной задачей является сайленсинг генов на посттранскрипционном этапе. В отличие от них, пиРНК обеспечивает, главным образом, стабильность генома эмбриона путем блокирования активности мобильных элементов ДНК.

Дисрегуляция мнРНК наблюдается при различных заболеваниях. Установлено, что нарушения экспрессии мнРНК возникают при развитии онкологических, неврологических, сердечно-сосудистых заболеваний, диабете. МнРНК могут выступать в качестве диагностических биомаркеров заболеваний и как компонент генно-терапевтических препаратов. Использование мнРНК как биомаркеров в медицине весьма перспективно, а существующие ограничения связаны со сложностью выявления мнРНК, различающихся одним или несколькими нуклеотидами. Весьма многообещающим является использование мнРНК в генной терапии, поскольку с их помощью гипотетически возможно отключить любой белковый компонент, не изменяя геном, что гораздо безопаснее других предлагаемых методов генной терапии. Главной задачей для клинического использования миРНК и микроРНК на сегодняшний день является создание эффективных систем доставки в клетки-мишени, поскольку несвязанные мнРНК не способны проникать через мембраны и разрушаются под действием ряда ферментов крови и тканей.

Таким образом, несмотря на ряд имеющихся проблем, мнРНК являются перспективными агентами для диагностики и терапии целого спектра заболеваний.

Ключевые слова: миРНК, микроРНК, пиРНК, генная терапия, терапия рака

Для цитирования: Абашкин, В. М. Малые некодирующие РНК: биологическая роль и биомедицинское применение / В. М. Абашкин, О. Г. Дмитрук, Д. Г. Щербин // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 232–244. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-232-244

V. Abashkin, V. Dzmitruk, D. Shcharbin

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

SMALL NON-CODING RNA: BIOLOGICAL FUNCTIONS AND BIOMEDICAL APPLICATION

Abstract. Small non-coding RNAs (sncRNA) are short RNA molecules that are involved in gene expression, posttranscriptional modifications and cell immunity regulation. The most studied and the most interesting for the medical application classes are small interfering RNA (siRNA), microRNA (miRNA) and piwi-interacting RNA (piRNA).

SncRNAs have a wide range of functions. Primary function of siRNA and miRNA is silencing of gene expression by binding or/and degradation of messenger RNA. PiRNA also have this function but its principal function is control of genome stability on the basis of blocking the activity of transposons.

Many diseases, such as cancer, diabetes, neurological, and cardiovascular diseases are accompanied by distortion of sncRNA expression. Abnormal sncRNA expression profile can be used as a hallmark to determine certain type of cancer. In all types of cancer were discovered deviations in the sncRNA pool.

From the medical point of view sncRNA can be used as disease marker or as a component of gene therapeutic drugs. In the case of markers usage sncRNAs deserve attention as universal and relatively stable samples. But frequently sncRNAs differ just by few nucleotides, which can create difficulties in their distinguishing. In the frame of gene therapy sncRNAs are able to silence theoretically any gene expression. As sncRNA affects mRNA but not DNA it allows avoiding accidental changes in the genome. In this case delivery systems for RNAs are highly needed, because sncRNAs are unable to penetrate the cell membrane and can be degraded by blood enzymes.

Despite of existing problems, sncRNAs are promising compounds for the diagnosis and therapy of wide range of diseases.

Keywords: ncRNA, siRNA, miRNA, piRNA, gene therapy, cancer treatment

For citation: Abashkin V., Dzmitruk V., Shcharbin D. Small non-coding RNA: biological functions and biomedical application. *Vestsi Natsyonal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 232–244 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-232-244

Введение. С каждым годом растет научное понимание механизмов функционирования клетки: обнаруживаются все новые пути и системы регуляции клеточных процессов, исследуются их функции. С момента открытия структуры и функции ДНК в середине прошлого века многие данные о структуре клетки были переосмыслены. Так, выяснилось, что одной из функций регионов ДНК, не участвующих в процессе кодирования белка, является кодирование различных регуляторных РНК.

В конце прошлого века был открыт ряд малых некодирующих РНК (мнРНК), не участвующих напрямую в синтезе белка, но играющих важную роль в регуляции экспрессии генов на разных уровнях [1, 2]. МнРНК обнаружены во всех типах организмов, включая даже вирусы и бактерии. Непосредственно в клетке мнРНК обычно локализованы в ядре и цитоплазме, реже – в ДНК-содержащих органеллах (митохондриях и пластидах), где и происходит их синтез [3–7].

На сегодняшний день не существует четкой классификации мнРНК, которая есть, например, для белков. Основным фактором разграничения мнРНК по классам является их распространенность в конкретных типах организмов, клеточная локализация и взаимодействие с сопровождающими белковыми комплексами. В рамках данной статьи рассмотрим три наиболее распространенных и изученных класса мнРНК, участвующих непосредственно в посттранскрипционной регуляции генов и представляющих особый интерес для биомедицинских исследований.

Биологическая роль и механизмы действия малых некодирующих РНК. *Малые интерферирующие РНК (миРНК, siРНК)* – класс некодирующих двухцепочечных РНК длиной примерно 20–25 п. н., участвующих в механизме РНК-интерференции. Первоначально их регуляторное действие было показано на клетках растений с помощью искусственных миРНК [8]. Следует отметить, что термин миРНК поначалу применяли только к синтетическим мнРНК. Позднее в клетках растений и животных были обнаружены эндогенные миРНК, работающие по такому же механизму, что и синтезированные РНК [9, 10].

Процессинг миРНК (рис. 1) в растительной и животной клетке несколько различается. В растительной клетке в качестве предшественников миРНК могут выступать длинные дцРНК или шпилечные первичные миРНК (шпилечные при-миРНК) [11]. В животных клетках шпилечные при-миРНК могут вызвать реакцию иммунной системы (так называемый интерфероновый ответ), поэтому принято считать, что основным предшественником миРНК в данном типе клеток является дцРНК [12, 13]. При-миРНК переносятся экспортом 5 в цитоплазму [14], где предшественники связываются с белковым комплексом Dicer, который генерирует короткие зрелые последовательности миРНК. В процессе такого созревания из одной цепи дцРНК могут выделяться до нескольких десятков гомологов зрелой миРНК [15].

Главной функцией миРНК является подавление экспрессии (сайленсинг, или замалчивание) генов. Попадая в цитозоль клетки, миРНК связывается со сложным белковым комплексом RISC (RNA-induced silencing complex), состоящим из белка класса AGO семейства Argonaute и ряда других вспомогательных белков [16]. В составе комплекса RISC миРНК комплементарно связывается с таргетной матричной РНК с последующей деградацией мРНК комплексом RISC в месте комплементарного связывания. Таким образом осуществляется ингибирование процесса трансляции таргетного белка [17, 18].

Кроме основной функции, связанной с сайленсингом генов, обнаружена также способность ряда синтетических миРНК повышать экспрессию генов [19]. Повышение экспрессии может

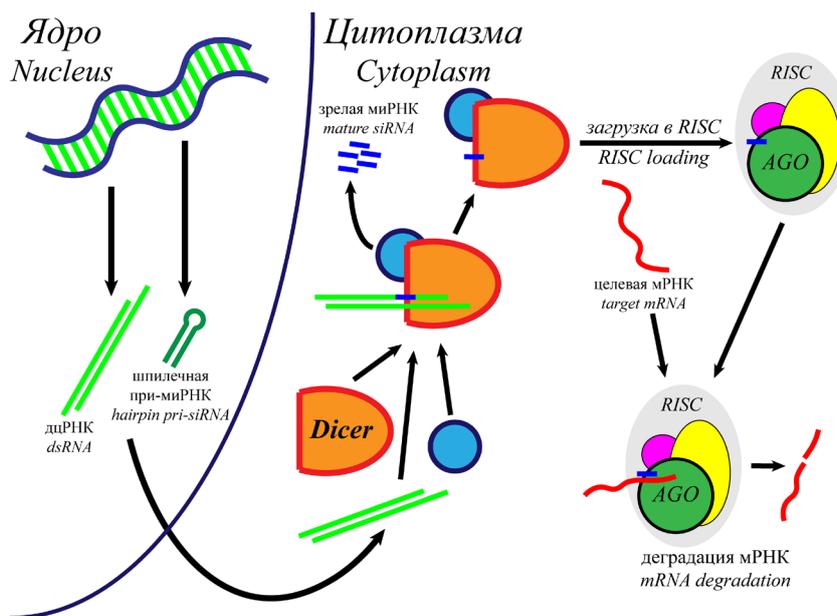


Рис. 1. Схема процессинга миРНК [12–15]

Fig. 1. SiRNA processing scheme [12–15]

осуществляться за счет введения миРНК, которая комплементарно связывает и ингибирует действие антигенных РНК (аgРНК), метилирующих промоторы (последовательность нуклеотидов, отвечающая за узнавание РНК-полимеразой места начала транскрипции) в ДНК, блокируя транскрипцию [20].

Учитывая тот факт, что миРНК могут передаваться между клетками различных типов, изменение экспрессии генов может быть осуществлено посредством миРНК, перенесенных из других клеток [21].

МикроРНК – класс малых некодирующих молекул РНК длиной 19–25 нуклеотидов, основной функцией которых является подавление активности экспрессии генов. МикроРНК близки по структуре и функциям к миРНК, однако, в отличие от миРНК, могут связываться с мРНК-мишенью с ошибками комплементарности. Это обеспечивает меньшую специфичность к мРНК-мишеням, определяя несколько мРНК-мишеней для одной микроРНК. Ошибки комплементарности микроРНК характерны для животных клеток. В растительной клетке микроРНК, как правило, полностью комплементарны мРНК-мишени аналогично миРНК, но сайленсинг идет по иному пути, чем у миРНК [22]. МикроРНК, связываясь с мРНК, может приводить не к деградации мРНК-мишени, а лишь к репрессии трансляции. В остальном процесс сайленсинга генов при участии микроРНК аналогичен таковому у миРНК [2, 16].

Большинство микроРНК кодируются в интронах, и, вероятно, процессинг микроРНК предшествует сплайсингу [23]. Транскрибируется данный тип мРНК РНК-полимеразой II или РНК-полимеразой III [24, 25]. В результате транскрипции образуется длинная нить первичной микроРНК (при-микроРНК) в форме шпильки. Размер шпильки может варьироваться от сотен до десятков тысяч пар нуклеотидов. Несмотря на схожесть со шпилечной при-миРНК, при-микроРНК не вызывает иммунного ответа в животной клетке за счет включения в последовательности ошибок комплементарности в шпильке при-микроРНК. Внутри ядра при-микроРНК обрезается в области перехода между одноцепочечной и двухцепочечной РНК, после чего образуется шпилька предшественника микроРНК (пре-микроРНК) длиной около 70 п. н. [26]. Пре-микроРНК транспортируется в цитоплазму, где происходит созревание до функционально активной формы микроРНК по аналогичному с миРНК механизму (рис. 2).

ПиРНК (*piРНК* – *piwi-interacting РНК*) – наиболее многочисленный класс малых некодирующих РНК длиной 23–35 нуклеотидов, экспрессируемых исключительно в животных клетках.

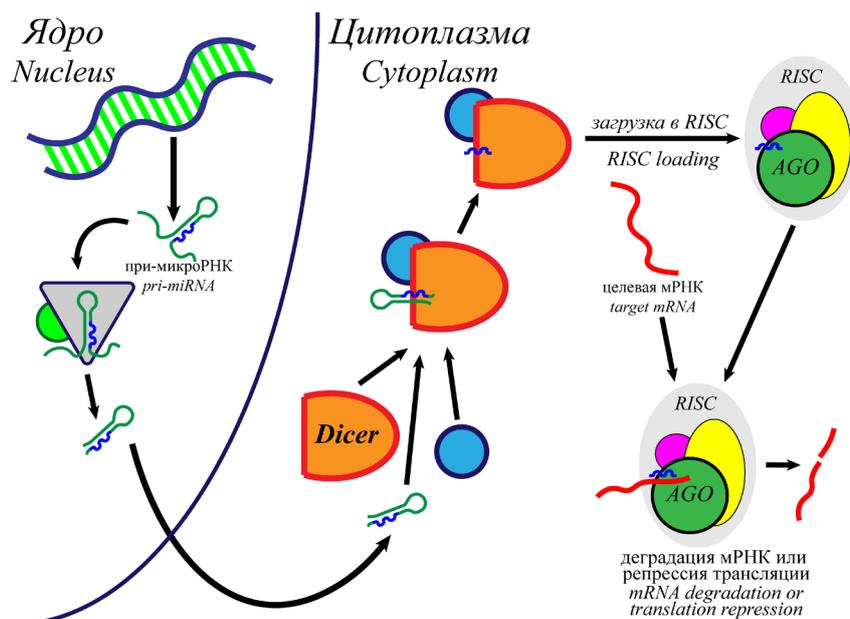


Рис. 2. Схема процессинга микроРНК [23, 26]

Fig. 2. MicroRNA processing scheme [23, 26]

В отличие от микро- и миРНК, насчитывающих, по разным оценкам, от сотен до тысяч различных последовательностей на организм, пиРНК весьма разнообразны: на один организм может приходиться сотни тысяч уникальных последовательностей. Как правило, нуклеотидные последовательности пиРНК не имеют специфических последовательностей и существенно различаются между собой, за исключением уридина в первом положении [27]. ПиРНК играют важную роль в поддержании стабильности генома стволовых клеток, блокируя активность транспозонов – мобильных элементов ДНК – в зародышевых линиях [28]. Аналогично миРНК и микроРНК, пиРНК участвуют в процессах подавления экспрессии генов, но взаимодействуют в комплексе с белками класса Piwi семейства Argonaute [29]. Также пиРНК могут блокировать перенос чужеродных мобильных элементов генома. Механизм такого переноса еще до конца не изучен [30].

До сих пор многие механизмы в процессинге пиРНК до конца не ясны (рис. 3). Гены, кодирующие пиРНК, обнаружены преимущественно в областях генома, названных пиРНК-кластерами. Исследования показали, что эндорибонуклеаза Zucchini, обнаруженная у дрозофил, и ее мышинный ортолог MitoPLD, вероятнее всего, являются факторами, которые вызывают укорачивание длинных транскриптов-предшественников до пиРНК-подобных структур [31]. Установлено, что Zucchini расположен на внешней мембране митохондрий, а активный центр белка может включать одноцепочечную последовательность предшественника пиРНК [32]. Zucchini формирует из первичной пиРНК последовательность длиной примерно 26 нуклеотидов, а его ортолог MitoPLD – цепь длиной 30–40 нуклеотидов [33]. В результате разрезания цепи на 5'-конце формируется фосфатная группа с уридином, характерная только для пиРНК. Далее предшественник связывается с белками Piwi и 3'-конец подвергается действию неизвестной нуклеазы [34]. После этого происходит 2'-О-метилирование нуклеотидной цепи с помощью белкового комплекса HEN1 и, таким образом, образуется зрелая пиРНК [35].

Перспективы применения малых некодирующих РНК в биомедицинских исследованиях.

Как показали результаты исследований, нарушение экспрессии мнРНК в опухолевых клетках по сравнению со здоровыми – распространенное явление [18, 36, 37]. Так, например, установлено, что в раковых клетках отклонения экспрессии наблюдаются почти у половины пула всех микроРНК [24]. При этом отмечают как подавление экспрессии микроРНК с супрессорной активностью по сравнению с нормальными тканями, так и гиперэкспрессию микроРНК противоположной направленности [38, 39]. Аномальная экспрессия некоторых микроРНК является достаточно универсальным показателем возникновения онкологических процессов. Так, гиперэкспрессия

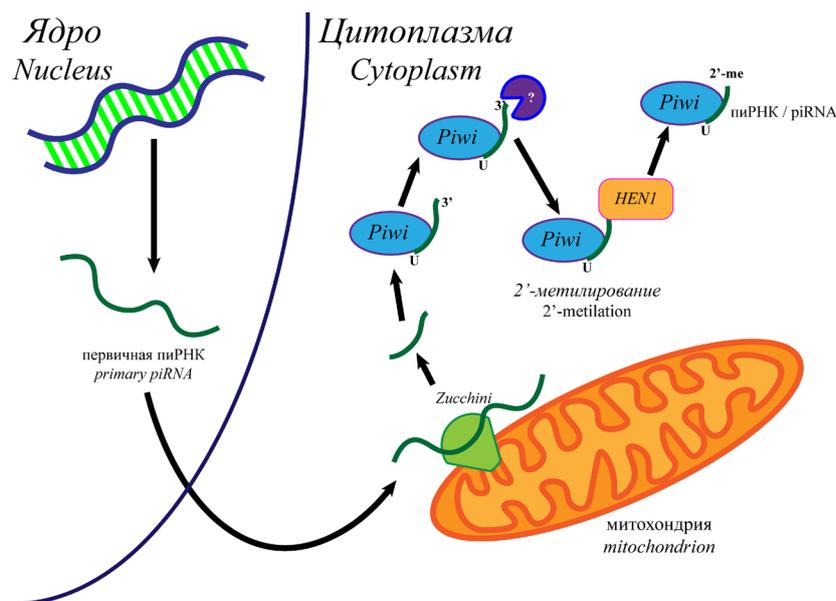


Рис. 3. Схема процессинга пиРНК [31–35]

Fig. 3. PiRNA processing scheme [31–35]

miR-21 характерна для многих видов опухолей [40]. При онкологических процессах может наблюдаться также изменение профиля экспрессии пиРНК. Аномальная экспрессия пиРНК в клетках отмечается, например, при раке желудка, раке печени и других типах опухолей [41].

Нарушение профиля экспрессии мРНК может быть обусловлено расположением их генов в хрупких областях хромосом. Другим механизмом, который способен привести к аномальной экспрессии мРНК и развитию рака, является изменение экспрессии и/или функционирование ферментов, участвующих в биогенезе ми- и микроРНК, таких как Droscha и Dicer. Сниженный уровень экспрессии белков Droscha и Dicer был обнаружен у 39 % пациентов, страдающих раком яичников [42].

МнРНК играют важную роль не только в развитии опухолевых процессов. Их дисрегуляция выявлена при ряде неврологических (болезнь Паркинсона, Альцгеймера), сердечно-сосудистых заболеваниях и диабете [43–46].

Изложенные выше данные дают основание предположить, что применение мнРНК возможно в двух основных областях: диагностике и терапии заболеваний. Изменение профиля экспрессии мнРНК в норме и при патологии легло в основу их использования в качестве биомаркеров. К преимуществам мнРНК в данном случае относят универсальность детекции и стабильность исследуемых образцов по сравнению, например, с образцами мРНК. Это связано с наличием у мнРНК метилированных групп [47]. Основными методами диагностики в этом случае выступают полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) и маркирование выделенных эндогенных мнРНК флуоресцентными зондами [48]. Точность анализа биомаркеров при применении данных методов осложняют низкая дифференциация РНК, отличающихся зачастую одним или несколькими нуклеотидами, а также значительные отличия уровня экспрессии в различных тканях, зависящего от множества параметров. Тем не менее, в ряде исследований демонстрируется перспективность этого направления. Например, с помощью ПЦР-РВ были определены профили микроРНК, отличающие различные формы опухолей молочной железы [49].

Другим аспектом применения мнРНК является их использование в терапии заболеваний. Все три типа мнРНК, перечисленные выше, исследуются в качестве основы для генетических препаратов, способных восстанавливать нарушенные метаболические процессы в клетках. В контексте генной терапии, применяемой для лечения рака, малые интерферирующие РНК действуют по правилам стратегии отключения, т. е. способны ингибировать практически любой белковый компонент независимо от локализации мишени непосредственно внутри клетки. Это и определяет их преимущество по сравнению с антителами или специфическими низкомолекулярными

ингибиторами ферментов, которые связываются непосредственно с поверхностью соответствующих антигенов или белков. Благодаря отсутствию прямого влияния на внутриядерную ДНК воздействие миРНК, как и микро- и пиРНК, не приводит к изменениям в геноме клетки-хозяина, что является гораздо более безопасным подходом генной терапии по сравнению с действием ДНК-плазмид. Несмотря на все преимущества миРНК, существует ряд факторов, ограничивающих их применение в клинических целях. При введении в клетки экзогенной миРНК, а также ее предшественников возможна конкуренция с эндогенными микроРНК за внутриклеточные белковые комплексы, отвечающие за процессинг и РНК-интерференцию. Таким образом, может наблюдаться насыщение путей клеточного механизма, реализующего естественную регуляцию с участием микроРНК. Последнее, в свою очередь, может приводить к токсичности за счет блокировки или торможения процессинга нативных микроРНК [50].

Предшественники миРНК способны вызывать врожденные иммунные реакции. Определенные GU-последовательности (например, 5'-GUCCUCAA-3') приводят к секреции воспалительных цитокинов. Относительно длинные двухцепочечные миРНК (более 30 нуклеотидов) могут быстро индуцировать интерфероны путем активации эволюционно консервативных механизмов, направленных на борьбу с инвазивными вирусными патогенами. В то же время миРНК, содержащие менее 30 нуклеотидов в цепи, не вызывают такой реакции [51]. Иммунный ответ на введение синтетической миРНК может быть полностью устранен селективным включением 2'-О-метилуридина или гуанозин-нуклеозидов в одну из нитей миРНК [52].

МикроРНК имеет ряд отличий по сравнению с миРНК. Как отмечалось ранее, микроРНК зачастую связываются с мРНК-мишенью с ошибками комплементарности. Это позволяет одному гомологу микроРНК связываться с несколькими таргетными мРНК, т. е. один гомолог может блокировать сразу несколько генов. Такая меньшая специфичность позволяет разрабатывать с помощью компьютерного моделирования мультитаргетные микроРНК, блокирующие сразу несколько целевых мРНК, что дает возможность эффективнее подавлять онкомаркеры [53]. Важно иметь в виду, что мультитаргетность может иметь и негативный эффект, если одна или несколько схожих мРНК-мишеней не являются целевыми для проведения терапии.

Потенциальные терапевтические стратегии с применением микроРНК делятся на две категории: искусственное повышение уровня противораковых микроРНК, которые экспрессируются раковыми клетками в недостаточных количествах, или же арест эндогенных микроРНК с высокой экспрессией в раковых клетках. Первый метод, как и в случае миРНК, основан на непосредственном введении в клетки синтетических мимиков микроРНК или их предшественников [54]. Подавление экспрессии микроРНК обычно осуществляется с помощью антагонистов микроРНК (antimiR) – модифицированных олигонуклеотидов, полностью комплементарных последовательности таргетной микроРНК. Такие олигонуклеотиды, как правило, не блокируют активность онкогенных микроРНК, а формируют с ними необратимые дуплексы и, как следствие, ингибируют функции гиперэкспрессированных онкогенных микроРНК [55, 56].

МикроРНК рассматриваются также как потенциальные терапевтические агенты в лечении гипертензии и других сердечно-сосудистых заболеваний. Показана связь низкой экспрессии miR-204 в клетках гладких мышц легочной артерии с гипертензией, что делает данную микроРНК потенциальным терапевтическим агентом [57]. Известно также, что miR-155 является регулятором экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота. Последний играет важную роль в поддержании сердечно-сосудистого гомеостаза, и снижение его концентрации в крови может быть одной из причин возникновения гипертензии, а впоследствии и эндотелиальной дисфункции. Таким образом, ингибирование miR-155 может служить новым терапевтическим подходом в устранении эндотелиальной дисфункции при развитии сердечно-сосудистых заболеваний [58].

ПиРНК пока не находят столь широкого применения в диагностике и терапии различных заболеваний, что обусловлено в первую очередь сложностью их идентификации ввиду огромного разнообразия ПиРНК в клетке. Тем не менее, исследования последних лет свидетельствуют о том, что изменение экспрессии пиРНК в норме и при патологии может применяться также в диагностике и терапии рака. С одной стороны, установлено, что piR-651 аномально экспрессируется в клетках рака желудка человека, что делает его потенциальным маркером данного

заболевания [41]. С другой стороны, пиРНК могут служить вспомогательным маркером в диагностике и терапии, так как, согласно ряду данных, профили микро- и пиРНК в отдельности в различных типах опухолей могут быть примерно одного характера, в то время как совместный профиль микро- и пиРНК является более специфичным для конкретного типа рака [59]. Кроме того, расширить диагностические возможности позволит тот факт, что экспрессия пиРНК в клетках слизистой оболочки желудка в норме подавляется при прилегании здоровых тканей к раковым [37].

Важным и, пожалуй, самым главным ограничением в использовании мнРНК в качестве терапевтических препаратов является их неспособность проникать в клетки через клеточную мембрану, а также их разрушение под действием ферментов при введении в кровь. Поэтому на сегодняшний момент особо остро стоит вопрос разработки эффективного метода доставки мнРНК внутрь клетки. Одним из путей решения этой проблемы является создание различных типов химической модификации мнРНК для их стабилизации во внутренней среде организма. Так, учитывая естественную структуру пиРНК, можно сделать вывод, что дополнительные концевые группы, содержащие уридин, могут резко повышать устойчивость пиРНК к деградации [47]. Однако большинство исследований на сегодняшний день посвящены разработке биосовместимых систем доставки мнРНК посредством вирусных и невирусных носителей. Вирусные системы доставки являются наиболее эффективными, но высокая канцерогенность и иммуногенность их носителей, конечная стоимость обуславливают необходимость разработки синтетических векторов. Весьма перспективны на сегодняшний день носители, представляющие собой наноструктуры различной природы: полимеры, липосомы, дендримеры, квантовые точки, металлические наночастицы [60–62]. Следует отметить, что большинство данных структур тканево неспецифичны при парентеральном введении. Особо сложной является доставка препарата при неонкологических заболеваниях, так как в данном случае аномальные клетки могут не иметь ярко выраженных отличий по сравнению со здоровыми. «Заставить» вектор высвобождать препарат в условиях, характерных только для нездоровых клеток (например, измененных рН или обедненных кислородом), невозможно. В некоторых случаях возможно использование таргетного лиганда, способного специфически взаимодействовать с клетками-мишенями.

В Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси авторами проведены исследования механизмов формирования комплексов между карбосилановыми дендримерами и антивирусными (анти-ВИЧ) миРНК. Установлено, что электростатические взаимодействия между катионными дендримерами и анионными миРНК приводят к формированию их комплексов, устойчивых в присутствии альбумина. При трансфекции в Т-лимфоциты линии МТ-2 и в мононуклеарные клетки периферической крови человека антивирусных миРНК с помощью дендримеров наблюдается существенное снижение выхода белка р24, что свидетельствует о подавлении размножения вируса ВИЧ в этих клетках [63, 64].

Одним из современных направлений генетической инженерии для лечения злокачественных опухолей является подавление механизмов малигнизации (злокачественной трансформации) нормальных клеток. При малигнизации нормальные клетки начинают бесконтрольно размножаться, теряя способность к апоптозу. Регуляция апоптоза в клетках осуществляется семейством белков Bcl-2, среди которых различают про- и антиапоптотические белки. К группе белков – ингибиторов апоптоза принадлежат белки Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, A-1, Boo и Mcl-1. Нами проведен комплексный анализ взаимодействия полиамидаминных и карбосилановых дендримеров с проапоптотическими миРНК, направленными против антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1. Исследованы механизмы формирования комплексов, установлены их характеристики. Показана высокая стабильность комплексов в присутствии РНКаз и альбумина. Обнаружено, что комплексы на основе дендримера и трех миРНК (так называемый «3 миРНК-коктейль») являются более эффективными для индуцирования процессов гибели злокачественных клеток линий HeLa и HL-60, чем одиночные миРНК в тех же концентрациях [65–67]. На основе полученных данных синтезирован новый тип фосфорного дендримера – катионный фосфорный АЕЗ дендример, отличающийся способностью эффективно доставлять антираковые миРНК в злокачественные клетки и индуцировать значительный цитотоксический эффект в этих клетках. На данный дендример подана заявка на международный патент [67].

Заклучение. Со времени открытия малых некодирующих РНК их механизмы и функции так до конца и не определены. Тем не менее, уже сейчас можно утверждать, что данный класс биомолекул представляет собой перспективное средство в борьбе с разного рода заболеваниями как в качестве диагностических маркеров, так и непосредственно в составе фармакологического препарата.

На декабрь 2017 г. ни один терапевтический препарат на основе мнРНК не прошел все стадии клинических испытаний [68]. Согласно прогнозам, препараты на основе ми- и микроРНК могут появиться на рынке в ближайшее десятилетие, при этом их стоимость может быть гораздо ниже существующих генетических препаратов. В целом пока существует не так много генетических препаратов, одобренных к использованию в разных странах. Среди них Gendicine (Китай, 2003), Glybera (Нидерланды, 2012), Strimvelis (Великобритания, 2016), Kymriah (США, 2017) [69–72]. Стоимость терапии с использованием данных препаратов может превышать 1 млн долларов.

В ходе дальнейших исследований важно не только найти строго специфичные маркеры различных заболеваний, сконструировать высокоспецифичные терапевтические РНК, но и найти эффективный способ их доставки. Вероятно, эффективная доставка малых терапевтических РНК будет заключаться как в сочетании модификации самих мнРНК, так и в использовании таргетных невирусных векторов.

В Республике Беларусь исследования в области применения малых некодирующих РНК и их доставки проводятся в лаборатории протеомики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Исследования сосредоточены в первую очередь на эффективной доставке ми- и микроРНК посредством наночастиц (дендримеров, дендронов, металлических наночастиц). Тесное сотрудничество с зарубежными коллегами из Франции, Польши и России позволяет постепенно решать поставленные задачи [63–66].

Благодарности. Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (гранты B15PM-60, B16-071, M15CO-041).

Acknowledgements. This work was supported by grants Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (B15RM-60, B16-071, M15CO-041).

Список использованных источников

1. Cech, T. R. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones / T. R. Cech, J. A. Steitz // *Cell*. – 2014. – Vol. 157, N 1. – P. 77–94.
2. Aravin, A. Identification and characterization of small RNAs involved in RNA silencing / A. Aravin, T. Tuschl // *FEBS Letters*. – 2005. – Vol. 579, N 26. – P. 5830–5840.
3. Systematic analysis of small RNAs associated with human mitochondria by deep sequencing: detailed analysis of mitochondrial associated miRNA / L. Spirada [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 9. – P. e44873.
4. Comparative analysis of the small RNA transcriptomes of *Pinus contorta* and *Oryza sativa* / R. D. Morin [et al.] // *Genome Research*. – 2008. – Vol. 18, N 4. – P. 571–584.
5. A small chloroplast RNA may be required for trans-splicing in *Chlamydomonas reinhardtii* / M. Goldschmidt-Clermont [et al.] // *Cell*. – 1991. – Vol. 65, N 1. – P. 135–143.
6. Majdalani, N. Bacterial small RNA regulators / N. Majdalani, C. K. Vanderpool, S. Gottesman // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. – 2005. – Vol. 40, N 2. – P. 93–113.
7. Hussain, M. MicroRNA-like viral small RNA from Dengue virus 2 autoregulates its replication in mosquito cells / M. Hussain, S. Asgari // *Proc. of the Nat. Acad. of Sciences*. – 2014. – Vol. 111, N 7. – P. 2746–2751.
8. Hamilton, A. J. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants / A. J. Hamilton, D. Baulcombe // *Science*. – 1999. – Vol. 286, N 5441. – P. 950–952.
9. Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes / T. Watanabe [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 453, N 7194. – P. 539–543.
10. Yang, N. L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells / N. Yang, H. H. Kazazian // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2006. – Vol. 13, N 9. – P. 763–771.
11. Mello, C. C. Revealing the world of RNA interference / C. C. Mello, D. Conte // *Nature*. – 2004. – Vol. 431, N 7006. – P. 338–342.
12. Endogenous siRNAs derived from transposons and mRNAs in *Drosophila* somatic cells / M. Ghildiyal [et al.] // *Science*. – 2008. – Vol. 320, N 5879. – P. 1077–1081.
13. DNA constructs designed to produce short hairpin, interfering RNAs in transgenic mice sometimes show early lethality and an interferon response / W. Cao [et al.] // *J. of Applied Genetics*. – 2005. – Vol. 46, N 2. – P. 217–225.
14. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs / R. Yi [et al.] // *Genes and Development*. – 2003. – Vol. 17, N 24. – P. 3011–3016.
15. Saito, K. Small RNA-mediated quiescence of transposable elements in animals / K. Saito, M. C. Siomi // *Developmental Cell*. – 2010. – Vol. 19, N 5. – P. 687–697.

16. Structural insights into RNA processing by the human RISC-loading complex / H. W. Wang [et al.] // *Nature Structural and Molecular Biology*. – 2009. – Vol. 16, N 11. – P. 1148–1153.
17. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference / E. Bernstein [et al.] // *Nature*. – 2001. – Vol. 409, N 6818. – P. 363–366.
18. Brummelkamp, T. R. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells / T. R. Brummelkamp, R. Bernards, R. Agami // *Science*. – 2002. – Vol. 296, N 5567. – P. 550–553.
19. Activating gene expression in mammalian cells with promoter-targeted duplex RNAs / B. A. Janowski [et al.] // *Nature Chemical Biology*. – 2007. – Vol. 3, N 3. – P. 166–173.
20. Inhibiting gene expression at transcription start sites in chromosomal DNA with antigene RNAs / B. A. Janowski [et al.] // *Nature Chemical Biology*. – 2005. – Vol. 1, N 4. – P. 216–222.
21. Endogenous RNAs modulate microRNA sorting to exosomes and transfer to acceptor cells / M. L. Squadrito [et al.] // *Cell Reports*. – 2014. – Vol. 8, N 5. – P. 1432–1446.
22. Wienholds, E. MicroRNA function in animal development / E. Wienholds, R. H. A. Plasterk // *FEBS Letters*. – 2005. – Vol. 579, N 26. – P. 5911–5922.
23. Kim, Y. K. Processing of intronic microRNAs / Y. K. Kim, V. N. Kim // *EMBO Journal*. – 2007. – Vol. 26, N 3. – P. 775–783.
24. Cai, X. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs / X. Cai, C. H. Hagedorn, B. R. Cullen // *RNA*. – 2004. – Vol. 10, N 12. – P. 1957–1966.
25. Borchert, G. M. RNA polymerase III transcribes human microRNAs / G. M. Borchert, W. Lanier, B. L. Davidson // *Nature Structural and Molecular Biology*. – 2006. – Vol. 13, N 12. – P. 1097–1101.
26. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex / J. Han [et al.] // *Cell*. – 2006. – Vol. 125, N 5. – P. 887–901.
27. Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila* / J. Brennecke [et al.] // *Cell*. – 2007. – Vol. 128, N 6. – P. 1089–1103.
28. Juliano, C. Uniting germline and stem cells: the function of Piwi proteins and the piRNA pathway in diverse organisms / C. Juliano, J. Wang, H. Lin // *Annu. Rev. of Genetics*. – 2011. – Vol. 45, N 1. – P. 447–469.
29. Hartig, J. V. piRNAs – the ancient hunters of genome invaders / J. V. Hartig, Y. Tomari, K. Förstemann // *Genes and Development*. – 2007. – Vol. 21, N 14. – P. 1707–1713.
30. Ishizu, H. Biology of PIWI-interacting RNAs: new insights into biogenesis and function inside and outside of germlines / H. Ishizu, H. Siomi, M. C. Siomi // *Genes and Development*. – 2012. – Vol. 26, N 21. – P. 2361–2373.
31. MITOPLD is a mitochondrial protein essential for nuage formation and piRNA biogenesis in the mouse germline / T. Watanabe [et al.] // *Developmental Cell*. – 2011. – Vol. 20, N 3. – P. 364–375.
32. Structure and function of Zucchini endoribonuclease in piRNA biogenesis / H. Nishimasu [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 491, N 7423. – P. 284–287.
33. Mohn, F. piRNA-guided slicing specifies transcripts for Zucchini-dependent, phased piRNA biogenesis / F. Mohn, D. Handler, J. Brennecke // *Science*. – 2015. – Vol. 348, N 6236. – P. 812–817.
34. Identification and functional analysis of the pre-piRNA 3' Trimmer in silkworms / N. Izumi [et al.] // *Cell*. – 2016. – Vol. 164, N 5. – P. 962–973.
35. Pimet, the *Drosophila* homolog of HEN1, mediates 2'-O-methylation of Piwi-interacting RNAs at their 3' ends / K. Saito [et al.] // *Genes and Development*. – 2007. – Vol. 21, N 13. – P. 1603–1608.
36. Федянин, М. Ю. Роль микро-РНК при солидных опухолях / М. Ю. Федянин, Е. О. Игнатова, С. А. Тюляндин // *Злокачеств. опухоли*. – 2013. – № 1 (5). – С. 3–14.
37. piR-823, a novel non-coding small RNA, demonstrates *in vitro* and *in vivo* tumor suppressive activity in human gastric cancer cells / J. Cheng [et al.] // *Cancer Letters*. – 2012. – Vol. 315, N 1. – P. 12–17.
38. Suppression of microRNA-96 expression inhibits the invasion of hepatocellular carcinoma cells / R. X. Chen [et al.] // *Molecular Medicine Reports*. – 2012. – Vol. 5, N 3. – P. 800–804.
39. Moon, J. Inhibition of microRNA-181 reduces forebrain ischemia-induced neuronal loss / J. Moon, L. Xu, R. G. Giffard // *J. of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. – 2013. – Vol. 33, N 12. – P. 1976–1982.
40. Krichevsky, A. M. miR-21: a small multi-faceted RNA / A. M. Krichevsky, G. Gabriely // *J. of Cellular and Molecular Medicine*. – 2009. – Vol. 13, N 1. – P. 39–53.
41. piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells / J. Cheng [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2011. – Vol. 412, N 17–18. – P. 1621–1625.
42. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer / W. M. Merritt [et al.] // *New England J. of Medicine*. – 2008. – Vol. 359, N 25. – P. 2641–2650.
43. Genetic ablation of Dicer in adult forebrain neurons results in abnormal tau hyperphosphorylation and neurodegeneration / S. S. Hébert [et al.] // *Human Molecular Genetics*. – 2010. – Vol. 19, N 20. – P. 3959–3969.
44. miRNA malfunction causes spinal motor neuron disease / S. Haramati [et al.] // *Proc. of the Nat. Acad. of Sciences*. – 2010. – Vol. 107, N 29. – P. 13111–13116.
45. MicroRNA-10a regulation of proinflammatory phenotype in athero-susceptible endothelium *in vivo* and *in vitro* / Y. Fang [et al.] // *Proc. of the Nat. Acad. of Sciences*. – 2010. – Vol. 107, N 30. – P. 13450–13455.
46. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study / L. Kong [et al.] // *Acta Diabetologica*. – 2011. – Vol. 48, N 1. – P. 61–69.
47. Ji, L. Regulation of small RNA stability: methylation and beyond / L. Ji, X. Chen // *Cell Research*. – 2012. – Vol. 22, N 4. – P. 624–636.

48. Davies, B. P. A fluorescence probe for assaying micro RNA maturation / B. P. Davies, C. Arenz // *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. – 2008. – Vol. 16, N 1. – P. 49–55.
49. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies / M. D. Mattie [et al.] // *Molecular Cancer*. – 2006. – Vol. 5, N 1. – 14 p.
50. Fatality in mice due to oversaturation of cellular microRNA/short hairpin RNA pathways / D. Grimm [et al.] // *Nature*. – 2006. – Vol. 441, N 7092. – P. 537–541.
51. Aagaard, L. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges / L. Aagaard, J. J. Rossi // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2007. – Vol. 59, N 2–3. – P. 75–86.
52. Design of noninflammatory synthetic siRNA mediating potent gene silencing *in vivo* / A. D. Judge [et al.] // *Molecular Therapy*. – 2006. – Vol. 13, N 3. – P. 494–505.
53. miR-Synth: a computational resource for the design of multi-site multi-target synthetic miRNAs / A. Laganà [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2014. – Vol. 42, N 9. – P. 5416–5425.
54. Bader, A. G. The promise of microRNA replacement therapy / A. G. Bader, D. Brown, M. Winkler // *Cancer Research*. – 2010. – Vol. 70, N 18. – P. 7027–7030.
55. Ishida, M. miRNA-based therapeutic strategies / M. Ishida, F. M. Selaru // *Current Pathobiology Reports*. – 2013. – Vol. 1, N 1. – P. 63–70.
56. Specificity, duplex degradation and subcellular localization of antagomirs / J. Krützfeldt [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2007. – Vol. 35, N 9. – P. 2885–2892.
57. Epigenetics: novel mechanism of pulmonary hypertension / J. B. Huang [et al.] // *Lung*. – 2013. – Vol. 191, N 6. – P. 601–610.
58. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase / H. X. Sun [et al.] // *Hypertension*. – 2012. – Vol. 60, N 6. – P. 1407–1414.
59. Esteller, M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps / M. Esteller // *Nature Reviews Genetics*. – 2007. – Vol. 8, N 4. – P. 286–298.
60. Whitehead, K. A. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery / K. A. Whitehead, R. Langer, D. G. Anderson // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2009. – Vol. 8, N 2. – P. 129–138.
61. Gary, D. J. Polymer-based siRNA delivery: perspectives on the fundamental and phenomenological distinctions from polymer-based DNA delivery / D. J. Gary, N. Puri, Y. Y. Won // *J. of Controlled Release*. – 2007. – Vol. 121, N 1. – P. 64–73.
62. Delivering the promise of miRNA cancer therapeutics / D. M. Pereira [et al.] // *Drug Discovery Today*. – 2013. – Vol. 18, N 5–6. – P. 282–289.
63. Characterization of carbosilane dendrimers as effective carriers of siRNA to HIV-infected lymphocytes / N. Weber [et al.] // *J. of Controlled Release*. – 2008. – Vol. 132, N 1. – P. 55–64.
64. Dendrimers complexed with HIV-1 peptides interact with liposomes and lipid monolayers / M. Ionov [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. – 2015. – Vol. 1848, N 4. – P. 907–915.
65. Anticancer siRNA cocktails as a novel tool to treat cancer cells. Part (A). Mechanisms of interaction / M. Ionov [et al.] // *Intern. J. of Pharmaceutics*. – 2015. – Vol. 485, N 1–2. – P. 261–269.
66. Anticancer siRNA cocktails as a novel tool to treat cancer cells. Part (B). Efficiency of pharmacological action / V. Dzimtruk [et al.] // *Intern. J. of Pharmaceutics*. – 2015. – Vol. 485, N 1–2. – P. 288–294.
67. Multi-target inhibition of cancer cell growth by siRNA cocktails and 5-fluorouracil using effective piperidine-terminated phosphorus dendrimers / A. Ihnatsyeu-Kachan [et al.] // *Colloids and Interfaces*. – 2017. – Vol. 1, N 1. – 18 P.
68. Titze-de-Almeida, R. The race of 10 synthetic RNAi-based drugs to the pharmaceutical market / R. Titze-de-Almeida, C. David, S. S. Titze-de-Almeida // *Pharmaceutical Research*. – 2017. – Vol. 34, N 7. – P. 1339–1363.
69. Pearson, S. China approves first gene therapy / S. Pearson, H. Jia, K. Kandachi // *Nature Biotechnology*. – 2004. – Vol. 22. – P. 3–4.
70. Valdmanis, P. N. rAAV-mediated tumorigenesis: still unresolved after an AAV assault / P. N. Valdmanis, L. Lisowski, M. A. Kay // *Molecular Therapy*. – 2012. – Vol. 20, N 11. – P. 2014–2017.
71. Booth, C. Treating immunodeficiency through HSC gene therapy / C. Booth, H. B. Gaspar, A. J. Thrasher // *Trends in Molecular Medicine*. – 2016. – Vol. 22, N 4. – P. 317–327.
72. FDA approval brings first gene therapy to the United States. CAR T-cell therapy approved to treat certain children and young adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia [Electronic resource] // U.S. Food and Drug Administration. – Mode of access: <https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm574058.htm>. – Date of access: 13.12.2017.

References

1. Cech T. R., Steitz J. A. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones. *Cell*, 2014, vol. 157, no. 1, pp. 77–94. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.008
2. Aravin A., Tuschl T. Identification and characterization of small RNAs involved in RNA silencing. *FEBS Letters*, 2005, vol. 579, no. 26, pp. 5830–5840. DOI: 10.1016/j.febslet.2005.08.009
3. Sripada L., Tomar D., Prajapati P., Singh R., Singh A. K., Singh R. Systematic analysis of small RNAs associated with human mitochondria by deep sequencing: detailed analysis of mitochondrial associated miRNA. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 9, pp. e44873. DOI: 10.1371/journal.pone.0044873
4. Morin R. D., Aksay G., Dolgosheina E., Ebhardt H. A., Magrini V., Mardis E. R., Sahinalp S. C., Unrau P. J. Comparative analysis of the small RNA transcriptomes of *Pinus contorta* and *Oryza sativa*. *Genome Research*, 2008, vol. 18, no. 4, pp. 571–584. DOI: 10.1101/gr.6897308

5. Goldschmidt-Clermont M., Choquet Y., Girard-Bascou J., Michel F., Schirmer-Rahire M., Rochaix J. D. A small chloroplast RNA may be required for trans-splicing in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Cell*, 1991, vol. 65, no. 1, pp. 135–143. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90415-u
6. Majdalani N., Vanderpool C. K., Gottesman S. Bacterial small RNA regulators. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, vol. 40, no. 2, pp. 93–113. DOI: 10.1080/10409230590918702
7. Hussain M., Asgari S. MicroRNA-like viral small RNA from Dengue virus 2 autoregulates its replication in mosquito cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no. 7, pp. 2746–2751. DOI: 10.1073/pnas.1320123111
8. Hamilton A. J., Baulcombe D. C. A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 1999, vol. 286, no. 5441, pp. 950–952. DOI: 10.1126/science.286.5441.950
9. Watanabe T., Totoki Y., Toyoda A., Kaneda M., Kuramochi-Miyagawa S., Obata Y., Chiba H., Kohara Y., Kono T., Nakano T., Surani M. A., Sakaki Y., Sasaki H. Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature*, 2008, vol. 453, no. 7194, pp. 539–543. DOI: 10.1038/nature06908
10. Yang N., Kazazian H. H. L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2006, vol. 13, no. 9, pp. 763–771. DOI: 10.1038/nsmb1141
11. Mello C. C., Conte D. Revealing the world of RNA interference. *Nature*, 2004, vol. 431, no. 7006, pp. 338–342. DOI: 10.1038/nature02872
12. Ghildiyal M., Seitz H., Horwich M. D., Li C., Du T., Lee S., Xu J., Kittler E. L. W., Zapp M. L., Weng Z., Zamore P. D. Endogenous siRNAs derived from transposons and mRNAs in *Drosophila* somatic cells. *Science*, 2008, vol. 320, no. 5879, pp. 1077–1081. DOI: 10.1126/science.1157396
13. Cao W., Hunter R., Strnatka D., McQueen C. A., Erickson R. P. DNA constructs designed to produce short hairpin, interfering RNAs in transgenic mice sometimes show early lethality and an interferon response. *Journal of Applied Genetics*, 2005, vol. 46, no. 2, pp. 217–225.
14. Yi R., Qin Y., Macara I. G., Cullen B. R. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes and Development*, 2003, vol. 17, no. 24, pp. 3011–3016. DOI: 10.1101/gad.1158803
15. Saito K., Siomi M. C. Small RNA-mediated quiescence of transposable elements in animals. *Developmental Cell*, 2010, vol. 19, no. 5, pp. 687–697. DOI: 10.1016/j.devcel.2010.10.011
16. Wang H. W., Noland C., Siridechadilok B., Taylor D. W., Ma E., Felderer K., Doudna J. A., Nogales E. Structural insights into RNA processing by the human RISC-loading complex. *Nature Structural and Molecular Biology*, 2009, vol. 16, no. 11, pp. 1148–1153. DOI: 10.1038/nsmb.1673
17. Bernstein E., Caudy A. A., Hammond S. M., Hannon G. J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 2001, vol. 409, no. 6818, pp. 363–366. DOI: 10.1038/35053110
18. Brummelkamp T. R., Bernards R., Agami R. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. *Science*, 2002, vol. 296, no. 5567, pp. 550–553. DOI: 10.1126/science.1068999
19. Janowski B. A., Younger S. T., Hardy D. B., Ram R., Huffman K. E., Corey D. R. Activating gene expression in mammalian cells with promoter-targeted duplex RNAs. *Nature Chemical Biology*, 2007, vol. 3, no. 3, pp. 166–173. DOI: 10.1038/nchembio860
20. Janowski B. A., Huffman K. E., Schwartz J. C., Ram R., Hardy D., Shames D. S., Minna J. D., Corey D. R. Inhibiting gene expression at transcription start sites in chromosomal DNA with antigene RNAs. *Nature Chemical Biology*, 2005, vol. 1, no. 4, p. 216–222. DOI: 10.1038/nchembio725
21. Squadrito M. L., Baer C., Burdet F., Maderna C., Gilfillan G. D., Lyle R., Ibberson M., De Palma M. Endogenous RNAs modulate microRNA sorting to exosomes and transfer to acceptor cells. *Cell Reports*, 2014, vol. 8, no. 5, pp. 1432–1446. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.07.035
22. Wienholds E., Plasterk R. H. A. MicroRNA function in animal development. *FEBS Letters*, 2005, vol. 579, no. 26, pp. 5911–5922. DOI: 10.1016/j.febslet.2005.07.070
23. Kim Y. K., Kim V. N. Processing of intronic microRNAs. *EMBO Journal*, 2007, vol. 26, no. 3, pp. 775–783. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601512
24. Cai X., Hagedorn C. H., Cullen B. R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA*, 2004, vol. 10, no. 12, pp. 1957–1966. DOI: 10.1261/rna.7135204
25. Borchert G. M., Lanier W., Davidson B. L. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nature Structural and Molecular Biology*, 2006, vol. 13, no. 12, pp. 1097–1101. DOI: 10.1038/nsmb1167
26. Han J., Lee Y., Yeom K. H., Nam J. W., Heo I., Rhee J. K., Sohn S. Y., Cho Y., Zhang B. T., Kim V. N. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*, 2006, vol. 125, no. 5, pp. 887–901. DOI: 10.1016/j.cell.2006.03.043
27. Brennecke J., Aravin A. A., Stark A., Dus M., Kellis M., Sachidanandam R., Hannon G. J. Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*. *Cell*, 2007, vol. 128, no. 6, pp. 1089–1103. DOI: 10.1016/j.cell.2007.01.043
28. Juliano C., Wang J., Lin H. Uniting germline and stem cells: the function of Piwi proteins and the piRNA pathway in diverse organisms. *Annual Review of Genetics*, 2011, vol. 45, no. 1, pp. 447–469. DOI: 10.1146/annurev-genet-110410-132541
29. Hartig J. V., Tomari Y., Förstemann K. piRNAs – the ancient hunters of genome invaders. *Genes and Development*, 2007, vol. 21, no. 14, pp. 1707–1713. DOI: 10.1101/gad.1567007
30. Ishizu H., Siomi M. C. Biology of PIWI-interacting RNAs: new insights into biogenesis and function inside and outside of germlines. *Genes and Development*, 2012, vol. 26, no. 21, pp. 2361–2373. DOI: 10.1101/gad.203786.112
31. Watanabe T., Chuma S., Yamamoto Y., Kuramochi-Miyagawa S., Totoki Y., Toyoda A., Hoki Y., Fujiyama A., Shibata T., Sado T., Noce T., Nakano T., Nakatsuji N., Lin H., Sasaki H. MITOPLD is a mitochondrial protein essential for nuage formation

and piRNA biogenesis in the mouse germline. *Developmental Cell*, 2011, vol. 20, no. 3, pp. 364–375. DOI: 10.1016/j.devcel.2011.01.005

32. Nishimasu H., Ishizu H., Saito K., Fukuhara S., Kamatani M. K., Bonnefond L., Matsumoto N., Nishizawa T., Nakanaga K., Aoki J., Ishitani R., Siomi H., Siomi M. C., Nureki O. Structure and function of Zucchini endoribonuclease in piRNA biogenesis. *Nature*, 2012, vol. 491, no. 7423, pp. 284–287. DOI: 10.1038/nature11509

33. Mohn F., Handler D., Brennecke J. piRNA-guided slicing specifies transcripts for Zucchini-dependent, phased piRNA biogenesis. *Science*, 2015, vol. 348, no. 6236, pp. 812–817. DOI: 10.1126/science.aaa1039

34. Izumi N., Shoji K., Sakaguchi Y., Honda S., Kirino Y., Suzuki T., Katsuma S., Tomari, Y. Identification and functional analysis of the pre-piRNA 3' Trimmer in silkworms. *Cell*, 2016, vol. 164, no. 5, pp. 962–973. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.008

35. Saito K., Sakaguchi Y., Suzuki T., Suzuki T., Siomi H., Siomi M. C. Pimet, the Drosophila homolog of HEN1, mediates 2'-O-methylation of Piwi-interacting RNAs at their 3' ends. *Genes and Development*, 2007, vol. 21, no. 13, pp. 1603–1608. DOI: 10.1101/gad.1563607

36. Fedyanin M. Yu., Ignatova E. O., Tyulyandin S. A. MicroRNA role in solid tumors. *Zlokachestvennye opukholi* [Malignant Tumours], 2013, no. 1 (5), pp. 3–14 (in Russian).

37. Cheng J., Deng H., Xiao B., Zhou H., Zhou F., Shen Z., Guo J. piR-823, a novel non-coding small RNA, demonstrates *in vitro* and *in vivo* tumor suppressive activity in human gastric cancer cells. *Cancer Letters*, 2012, vol. 315, no. 1, pp. 12–17. DOI: 10.1016/j.canlet.2011.10.004

38. Chen R. X., Xia Y. H., Xue T. C., Ye S. L. Suppression of microRNA-96 expression inhibits the invasion of hepatocellular carcinoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 2012, vol. 5, no. 3, pp. 800–804. DOI: 10.3892/mmr.2011.695

39. Moon J., Xu L., Giffard R. G. Inhibition of microRNA-181 reduces forebrain ischemia-induced neuronal loss. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2013, vol. 33, no. 12, pp. 1976–1982. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.157

40. Krichevsky A. M., Gabriely G. miR-21: a small multi-faceted RNA. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2009, vol. 13, no. 1, pp. 39–53. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00556.x

41. Cheng J., Guo J. M., Xiao B. X., Miao Y., Jiang Z., Zhou H., Li Q. N. piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells. *Clinica Chimica Acta*, 2011, vol. 412, no. 17–18, pp. 1621–1625. DOI: 10.1016/j.cca.2011.05.015

42. Merritt W. M., Lin Y. G., Han L. Y., Kamat A. A., Spannuth W. A., Schmandt R., Urbauer D., Pennacchio L. A., Cheng J. F., Nick A. M., Deavers M. T., Mourad-Zeidan A., Wang H., Mueller P., Lenburg M. E., Gray J. W., Mok S., Birrer M. J., Lopez-Berestein G., Coleman R. L., Bar-Eli M., Sood A. K. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 2008, vol. 359, no. 25, pp. 2641–2650. DOI: 10.1056/nejmoa0803785

43. Hébert S. S., Papadopoulou A. S., Smith P., Galas M. C., Planel E., Silahatoglu A. N., Sergeant N., Buée L., De Strooper B. Genetic ablation of Dicer in adult forebrain neurons results in abnormal tau hyperphosphorylation and neurodegeneration. *Human Molecular Genetics*, 2010, vol. 19, no. 20, pp. 3959–3969. DOI: 10.1093/hmg/ddq311

44. Haramati S., Chapnik E., Sztainberg Y., Eilam R., Zwang R., Gershoni N., McGlinn E., Heiser P. W., Wills A. M., Wirguin I., Rubin L. L., Misawa H., Tabin C. J., Brown Jr. R., Chen A., Hornstein E. miRNA malfunction causes spinal motor neuron disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, vol. 107, no. 29, pp. 13111–13116. DOI: 10.1073/pnas.1006151107

45. Fang Y., Shi C., Manduchi E., Civelek M., Davies P. F. MicroRNA-10a regulation of proinflammatory phenotype in atherosusceptible endothelium *in vivo* and *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, vol. 107, no. 30, pp. 13450–13455. DOI: 10.1073/pnas.1002120107

46. Kong L., Zhu J., Han W., Jiang X., Xu M., Zhao Y., Dong Q., Pang Z., Guan Q., Gao L., Zhao J., Zhao L. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study. *Acta Diabetologica*, 2011, vol. 48, no. 1, pp. 61–69. DOI: 10.1007/s00592-010-0226-0

47. Ji L., Chen X. Regulation of small RNA stability: methylation and beyond. *Cell Research*, 2012, vol. 22, no. 4, pp. 624–636. DOI: 10.1038/cr.2012.36

48. Davies B. P., Arenz C. A fluorescence probe for assaying micro RNA maturation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2008, vol. 16, no. 1, pp. 49–55. DOI: 10.1016/j.bmc.2007.04.055

49. Mattie M. D., Benz C. C., Bowers J., Sensinger K., Wong L., Scott G. K., Fedele V., Ginzinger D., Getts R., Haqq C. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies. *Molecular Cancer*, 2006, vol. 5, no. 1. 14 p. DOI: 10.1186/1476-4598-5-24

50. Grimm D., Stretz K. L., Jopling C. L., Storm T. A., Pandey K., Davis C. R., Marion P., Salazar F., Kay M. A. Fatality in mice due to oversaturation of cellular microRNA/short hairpin RNA pathways. *Nature*, 2006, vol. 441, no. 7092, pp. 537–541. DOI: 10.1038/nature04791

51. Aagaard L., Rossi J. J. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007, vol. 59, no. 2–3, pp. 75–86. DOI: 10.1016/j.addr.2007.03.005

52. Judge A. D., Bola G., Lee A. C., MacLachlan I. Design of noninflammatory synthetic siRNA mediating potent gene silencing *in vivo*. *Molecular Therapy*, 2006, vol. 13, no. 3, pp. 494–505. DOI: 10.1016/j.ymthe.2005.11.002

53. Laganà A., Acunzo M., Romano G., Pulvirenti A., Veneziano D., Cascione L., Giugno R., Gasparini P., Shasha D., Ferro A., Croce C. M. miR-Synth: a computational resource for the design of multi-site multi-target synthetic miRNAs. *Nucleic Acids Research*, 2014, vol. 42, no. 9, pp. 5416–5425. DOI: 10.1093/nar/gku202

54. Bader A. G., Brown D., Winkler M. The promise of microRNA replacement therapy. *Cancer Research*, 2010, vol. 70, no. 18, pp. 7027–7030. DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-2010

55. Ishida M., Selaru F. M. miRNA-based therapeutic strategies. *Current Pathobiology Reports*, 2013, vol. 1, no. 1, pp. 63–70. DOI: 10.1007/s40139-012-0004-5

56. Krützfeldt J., Kuwajima S., Braich R., Rajeev K. G., Pena J., Tuschl T., Manoharan M., Stoffel M. Specificity, duplex degradation and subcellular localization of antagomirs. *Nucleic Acids Research*, 2007, vol. 35, no. 9, pp. 2885–2892. DOI: 10.1093/nar/gkm024
57. Huang J. B., Liang J., Zhao X. F., Wu W. S., Zhang F. Epigenetics: novel mechanism of pulmonary hypertension. *Lung*, 2013, vol. 191, no. 6, pp. 601–610. DOI: 10.1007/s00408-013-9505-1
58. Sun H. X., Zeng D. Y., Li R. T., Pang R. P., Yang H., Hu Y. L., Zhang Q., Jiang Y., Huang L. Y., Tang Y. B., Yan G. J., Zhou J. G. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension*, 2012, vol. 60, no. 6, pp. 1407–1414. DOI: 10.1161/hypertensionaha.112.197301
59. Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nature Reviews Genetics*, 2007, vol. 8, no. 4, pp. 286–298. DOI: 10.1038/nrg2005
60. Whitehead K. A., Langer R., Anderson D. G. Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2009, vol. 8, no. 2, pp. 129–138. DOI: 10.1038/nrd2742
61. Gary D. J., Puri N., Won Y. Y. Polymer-based siRNA delivery: perspectives on the fundamental and phenomenological distinctions from polymer-based DNA delivery. *Journal of Controlled Release*, 2007, vol. 121, no. 1, pp. 64–73. DOI: 10.1016/j.jconrel.2007.05.021
62. Pereira D. M., Rodrigues P. M., Borralho P. M., Rodrigues C. M. Delivering the promise of miRNA cancer therapeutics. *Drug Discovery Today*, 2013, vol. 18, no. 5–6, pp. 282–289. DOI: 10.1016/j.drudis.2012.10.002
63. Weber N., Ortega P., Clemente M. I., Shcharbin D., Bryszewska M., de la Mata F. J., Gómez R., Muñoz-Fernández M. A. Characterization of carbosilane dendrimers as effective carriers of siRNA to HIV-infected lymphocytes. *Journal of Controlled Release*, 2008, vol. 132, no. 1, pp. 55–64. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.07.035
64. Ionov M., Ciepluch K., Garaiova Z., Melikishvili S., Michlewska S., Balcerzak Ł., Glińska S., Miłowska K., Gomez-Ramirez R., de la Mata F. J., Shcharbin D., Waczulikova I., Bryszewska M., Hianik T. Dendrimers complexed with HIV-1 peptides interact with liposomes and lipid monolayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2015, vol. 1848, no. 4, pp. 907–915. DOI: 10.1016/j.bbame.2014.12.025
65. Ionov M., Lazniewska J., Dzmirutuk V., Halets I., Loznikova S., Novopashina D., Apartsin E., Krasheninina O., Venyaminova A., Miłowska K., Nowacka O., Gomez-Ramirez R., de la Mata F. J., Majoral J. P., Shcharbin D., Bryszewska M. Anticancer siRNA cocktails as a novel tool to treat cancer cells. Part (A). Mechanisms of interaction. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, vol. 485, no. 1–2, pp. 261–269. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.024
66. Dzmirutuk V., Szulc A., Shcharbin D., Janaszewska A., Shcharbina N., Lazniewska J., Novopashina D., Buyanova M., Ionov M., Klajnert-Maculewicz B., Gómez-Ramirez R., Mignani S., Majoral J. P., Muñoz-Fernández M. A., Bryszewska M. Anticancer siRNA cocktails as a novel tool to treat cancer cells. Part (B). Efficiency of pharmacological action. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, vol. 485, no. 1–2, pp. 288–294. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.03.034
67. Ihnatsyeu-Kachan A., Dzmirutuk V., Apartsin E., Krasheninina O., Ionov M., Loznikova S., Venyaminova A., Miłowska K., Shcharbin D., Mignani S., Muñoz-Fernández M. A., Majoral J. P., Bryszewska M. Multi-target inhibition of cancer cell growth by siRNA cocktails and 5-fluorouracil using effective piperidine-terminated phosphorus dendrimers. *Colloids and Interfaces*, 2017, vol. 1, no. 1. 18 p. DOI: 10.3390/colloids1010006
68. Titze-de-Almeida R., David C., Titze-de-Almeida S. S. The Race of 10 Synthetic RNAi-based drugs to the pharmaceutical market. *Pharmaceutical Research*, 2017, vol. 34, no. 7, pp. 1339–1363. DOI: 10.1007/s11095-017-2134-2
69. Pearson S., Jia H., Kandachi K. China approves first gene therapy. *Nature Biotechnology*, 2004, vol. 22, pp. 3–4. DOI: 10.1038/nbt0104-3
70. Valdmanis P. N., Lisowski L., Kay M. A. rAAV-mediated tumorigenesis: still unresolved after an AAV assault. *Molecular Therapy*, 2012, vol. 20, no. 11, pp. 2014–2017. DOI: 10.1038/mt.2012.220
71. Booth C., Gaspar H. B., Thrasher A. J. Treating immunodeficiency through HSC gene therapy. *Trends in Molecular Medicine*, 2016, vol. 22, no. 4, pp. 317–327. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.02.002
72. FDA approval brings first gene therapy to the United States. CAR T-cell therapy approved to treat certain children and young adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *U. S. Food and Drug Administration*. Available at: <https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm574058.htm> (accessed 13.12.2017).

Информация об авторах

Абашкин Виктор Михайлович – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: victor.abashkin@yandex.by.

Дмитрук Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dmitruk.olga@gmail.com.

Шербин Дмитрий Григорьевич – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: d.shcharbin@gmail.com.

Information about the authors

Viktar M. Abashkin – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: victor.abashkin@yandex.by.

Volha G. Dzmirutuk – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dmitruk.olga@gmail.com.

Dzmitry G. Shcharbin – D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: d.shcharbin@gmail.com.

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

SCIENTISTS OF BELARUS

ЛЮБОВЬ ВЛАДИМИРОВНА ХОТЫЛЕВА

(К юбилею)



12 марта исполнилось 90 лет выдающемуся ученому в области генетики, доктору биологических наук, профессору, академику НАН Беларуси Любове Владимировне Хотылевой.

Любовь Владимировна родилась в 1928 г. в г. Гомеле. Среднюю школу окончила в эвакуации в Куйбышевской (ныне Самарской) области, ст. Кинель. В 1944 г. поступила в Кинельский сельскохозяйственный институт, с 1946 г. продолжила учебу в Беларуси (г. Горки Могилевской области) в Сельскохозяйственном институте (в настоящее время Белорусская государственная сельскохозяйственная академия), который окончила с отличием в 1948 г.

Склонность к исследовательской работе, которую она проявила в студенческие годы, послужила основой для рекомендации ее в аспирантуру кафедры генетики Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова. В МГУ Любовь Владимировна прошла хорошую научную школу под руководством известного советского ученого-селекционера, академика ВАСХНИЛ Бориса Павловича Соколова и в 1953 г. успешно защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук, посвященную генетике и селекции кукурузы.

В 1955 г. после полутора лет работы на Кабардино-Балкарской опытной станции Л. В. Хотылева приехала в Минск и поступила на работу в Институт биологии АН БССР. С этих пор и вот уже более 60 лет ее научная деятельность протекает в НАН Беларуси, в которой она прошла путь от младшего научного сотрудника до директора Института генетики и цитологии (1971–1995), академика-секретаря Отделения биологических наук (1992–1997), советника Президиума НАН Беларуси (1997–2002).

Имя Любове Владимировны Хотылевой неразрывно связано со становлением и развитием генетических исследований в нашей стране. С момента прихода в Институт биологии АН БССР она активно занимается проблемой гетерозиса. Вместе со своими сотрудниками изучает комбинационную способность у растений, разрабатывает методы ее анализа и оценки исходного материала при селекции растений на гетерозис, проводит масштабные исследования по математической генетике, связанные с моделированием явления гетерозиса, изучением роли отдельных наследственных факторов в определении гибридной мощности растений. Впервые в Советском Союзе разрабатываются методы оценки комбинационной способности на основе диаллельного анализа, получившие широкое распространение в селекционно-генетических центрах страны. Научные результаты по данному направлению исследований обобщены в ее докторской диссертации «Принципы и методы селекции на комбинационную способность», успешно защищенной в 1966 г., а также изложены в монографиях «Гетерозис» (1961, 1983), «Селекция гибридной кукурузы» (1965), «Диаллельный анализ в селекции растений» (1974). Эти работы стали важнейшими пособиями для генетиков и селекционеров бывшего СССР. За разработку проблем гетерозиса Любове Владимировне вместе с другими сотрудниками Института генетики и цитологии в 1984 г. присуждена Государственная премия БССР в области науки и техники.

Большая заслуга принадлежит Л. В. Хотылевой в создании модификации метода реципрокной рекуррентной селекции межлинейных гибридов кукурузы на основе межсортовых скрещиваний, который позволяет повышать продуктивность гибридов. Результаты этих исследований, получивших широкое признание, обобщены в монографии «Периодический отбор в селекции растений» (1976) и в монографии «Рекуррентная селекция» под научной редакцией Л. В. Хотылевой (1985).

Большой интерес представляют исследования Л. В. Хотылевой, связанные с актуальной проблемой генетики и теории селекции – влиянием среды на проявление хозяйственных признаков у сельскохозяйственных растений. По этому направлению опубликованы монографии «Взаимодействие генотипа и среды. Методы оценки» (1982), «Генотип и среда в селекции растений» (1989), «Экологическая селекция растений» (1997). За разработку принципов и методов экологической селекции растений академик Л. В. Хотылева совместно с академиком А. В. Кильчевским удостоена премии НАН Беларуси 1999 г.

Наряду с этим Л. В. Хотылевой изучаются генетические основы изменчивости степени перекрестно- и самоопыляемости растений. Знание природы неоднородности растений по этому признаку позволяет правильно наметить селекционную стратегию повышения урожайности сортов. Результатам исследований посвящена монография Л. В. Хотылевой с сотрудниками «Полиморфизм растений по степени перекрестноопыляемости» (1981). Интересные цитогенетические и генетико-селекционные работы выполнены под руководством Л. В. Хотылевой на анеуплоидах пшеницы. Результаты по созданию и использованию серии моносомных линий получили широкую известность в бывшем СССР и за рубежом и опубликованы в монографии «Моносомный анализ в генетических исследованиях пшеницы» (1984).

Несколько позже Л. В. Хотылева и ее сотрудники обратились к новому перспективному направлению на стыке генетики и биотехнологии – использованию культуры клеток и тканей растений в генетических исследованиях и селекции. В рамках этой тематики разработаны эффективные методы создания тритикале с интрогрессией чужеродного генетического материала от диких видов пшеницы, создана серия линий тритикале с системой *Vrn* генов, играющих важную роль в адаптации растений к условиям внешней среды. В 2007 г. научные исследования по реорганизации ядерного генома злаков методами биотехнологии, выполненные под руководством Л. В. Хотылевой совместно с Институтом цитологии и генетики СО РАН, удостоены премии им. академика В. А. Коптюга.

В последние годы Любовь Владимировна продолжает исследования по изучению генетических основ формирования продуктивности и признаков качества сельскохозяйственных растений с использованием современных молекулярно-генетических и биохимических подходов, генетическому анализу действия генов при гетерозисе, внутривидовой, межвидовой и отдаленной гибридизации. В настоящее время разрабатываются методы маркер-сопутствующей селекции перца сладкого и капусты белокочанной по генам качества плодов и устойчивости к болезням. С целью выявления факторов, влияющих на качество льноволокна, исследуются целлюлозосинтазоподобные гены в клетках стебля различных форм льна и уровни их экспрессии. Подобраны молекулярные маркеры к генам, контролирующим качественные показатели зерна кукурузы и пшеницы, проводится генотипирование коллекций зерновых культур.

Свои исследования Л. В. Хотылева тесно связывает с нуждами селекции и сельскохозяйственного производства. Она является одним из инициаторов проведения генетических исследований с новой зерновой культурой тритикале и одним из авторов высокопродуктивного сорта этой культуры Немига 2. При участии Л. В. Хотылевой совместно с РУП «Институт овощеводства НАН Беларуси» и БГСХА созданы 7 гибридов томатов, 8 сортов перца сладкого, 4 гибрида капусты и сорт перца горького, из них за последние 5 лет – 8 сортов и гибридов.

Научные труды Л. В. Хотылевой широко известны научной общественности как у нас в стране, так и за рубежом. Лично и в соавторстве Л. В. Хотылевой опубликовано более 850 научных работ, в том числе 30 монографий. Она является обладателем 23 авторских свидетельств на сорта и 9 патентов. В 2015 г. за многотомное издание «Генетические основы селекции растений» академик Л. В. Хотылева в составе авторского коллектива награждена премией НАН Беларуси.

Благодаря активной научно-педагогической деятельности Л. В. Хотылевой создана одна из мощнейших генетических научных школ, насчитывающая 6 докторов и 46 кандидатов наук.

Значительная роль принадлежит Л. В. Хотылевой в организации биологической науки. Более двух десятилетий (1971–1995) она возглавляла Институт генетики и цитологии. Ее незаурядные организационные способности в немалой степени способствовали тому, что институт занял лидирующие позиции в стране в области генетики и вошел в тройку ведущих генетических институтов на постсоветском пространстве. Достижения Л. В. Хотылевой были высоко оценены научной общественностью. В 1972 г. она избрана членом-корреспондентом, в 1980 г. – академиком АН БССР.

В 1992 г. Л. В. Хотылева была избрана академиком-секретарем Отделения биологических наук АН Беларуси. В течение 5 лет пребывания на этом посту Л. В. Хотылева много усилий приложила для сохранения научного потенциала белорусских биологов, дальнейшего развития основных направлений современной биологии, расширения и укрепления международных связей научных учреждений отделения.

В течение ряда лет Л. В. Хотылева плодотворно работала в составе Президиума НАН Беларуси, Президиума ВАК СССР и ВАК Беларуси, состояла членом Правления ISSEP (International Soros Science Education Program), являлась заместителем председателя и руководителем секции биологических наук Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, вице-президентом Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова, многие годы возглавляла Белорусское общество генетиков и селекционеров. На протяжении многих лет академик Л. В. Хотылева занималась общественной работой в качестве депутата Минского городского Совета депутатов трудящихся (1967–1979), являлась делегатом XXXI сессии Организации Объединенных Наций (1976 г., г. Нью-Йорк, США) и делегатом Третьего Всебелорусского народного собрания (2006). Сегодня Любовь Владимировна активно работает в составе Комитета по Государственным премиям Республики Беларусь, входит в состав редколлегий многих ведущих научных журналов и целого ряда научных и экспертных советов.

За заслуги в области науки, высочайший профессионализм и многолетнюю плодотворную деятельность Любовь Владимировна удостоена звания «Заслуженный деятель науки БССР» и Благодарности Президента Республики Беларусь А. Г. Лукашенко, отмечена высокими правительственными наградами – орденами Ленина, Трудового Красного Знамени, Франциска Скорины, медалью «За доблестный труд в ознаменование 100-летия со дня рождения В. И. Ленина» и др.

Отделение биологических наук, коллектив Института генетики и цитологии, ученики и коллеги сердечно поздравляют Любовь Владимировну с юбилеем и выражают свою признательность, глубочайшее уважение и почтение за самоотверженный труд, талант и мастерство, за верность высокому призванию, внимательное и чуткое отношение к людям. Желаем Любви Владимировне крепкого здоровья, успехов во всех начинаниях и новых свершений на благо генетической науки.

*А. В. Кильчевский, М. Е. Никифоров, И. Д. Волотовский,
В. А. Лемеш, В. В. Титок, А. П. Ермишин, Е. А. Сычева*

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.1

DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-248-256

Поступила в редакцию 05.02.2018

Received 05.02.2018

Н. Г. Аверина, Л. Ф. Кабашникова, Н. В. Шалыго, И. Д. Волотовский

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

НАУЧНЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БЕЛОРУССКОЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ШКОЛЫ: ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ (К 200-ЛЕТИЮ ОТКРЫТИЯ ХЛОРОФИЛЛА)

Аннотация. Изложены основные научные достижения всемирно известной белорусской фотосинтетической школы, основанной Т. Н. Годневым и А. А. Шлыком, в изучении процессов хлорофиллообразования, биогенеза и организации аппарата фотосинтеза в растительных организмах. Особое внимание уделено современному развитию представлений о биосинтезе хлорофилла и структурно-функциональном состоянии фотосинтетических мембран в работах белорусских биофизиков-фотосинтетиков. Охарактеризованы актуальные научные направления развития исследований в области фотосинтеза в Республике Беларусь.

Ключевые слова: хлорофилл, фотосинтез, фотосинтетические мембраны, растения, водоросли, белорусская фотосинтетическая научная школа

Для цитирования: Научные достижения белорусской фотосинтетической школы: история и перспективы (к 200-летию открытия хлорофилла) / Н. Г. Аверина [и др.] // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2018. – Т. 63, № 2. – С. 248–256. DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-248-256

N. G. Averina, L. F. Kabashnikova, N. V. Shalygo, I. D. Volotovskii

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

SCIENTIFIC ACHIEVEMENTS OF THE BELARUS PHOTOSYNTHETIC SCHOOL: HISTORY AND PROSPECTS (TO THE 200th ANNIVERSARY OF OPENING CHLOROPHYLL)

Abstract. The main scientific achievements of the world famous Belarusian photosynthetic school, founded by T. N. Godnev and A. A. Shlyk, in the field of the study of the processes of chlorophyll biosynthesis, biogenesis and organization of the photosynthetic apparatus in plant organisms are presented. Particular attention is paid to the modern development of concepts of the biosynthesis of chlorophyll and the structural and functional state of photosynthetic membranes in the studies of Belarusian biophysicists specializing in photosynthesis. The scientific directions of research of current interest in the field of photosynthesis in the Republic of Belarus are characterized.

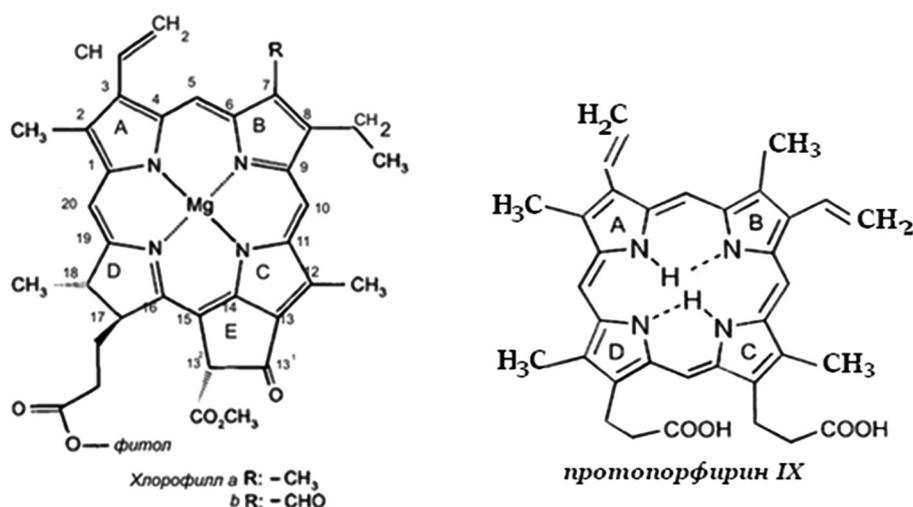
Keywords: chlorophyll, photosynthesis, photosynthetic membranes, plants, algae, belarusian scientific school for photosynthesis

For citation: Averina N. G., Kabashnikova L. F., Shalygo N. V., Volotovskii I. D. Scientific achievements of the belarus photosynthetic school: history and prospects (to the 200th anniversary of opening chlorophyll). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 248–256 (in Russian). DOI: 10.29235/1029-8940-2018-63-2-248-256

История создания белорусской фотосинтетической школы. В 2017 г. исполнилось 200 лет со дня открытия Жозефом Каванту (J. Caventou) и Пьером Пеллетье (P. Pelletier) хлорофилла, 50 лет со дня установления его стереохимии Яном Флемингом (I. Fleming) и 100 лет со дня рождения лауреата Нобелевской премии Роберта Вудворда (R. Woodward), осуществившего синтез хлорофилла *a* и *b*, в основе которых лежит циклический тетрапиррол – протопорфирин IX (см. рисунок).

«Зерно хлорофилла – исходная точка всего того, что мы понимаем под словом «жизнь», – писал в 1920 г. академик К. А. Тимирязев в книге «Солнце, жизнь и хлорофилл» (издана в 1923 г.). Именно возникновение фотосинтеза в процессе эволюции когда-то дало жизнь всему разнообразию живого мира на нашей планете. Этот процесс был открыт в 1771 г. английским естествоиспытателем Джозефом Пристли (J. Priestley).

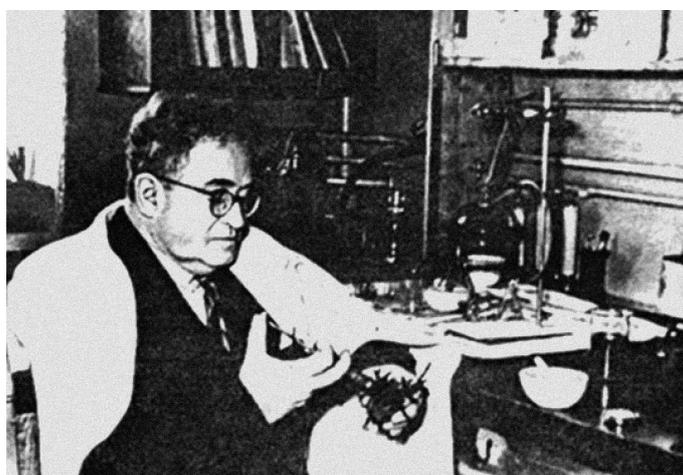
Используя энергию Солнца, растения обеспечивают животных и человека пищей и кислородом, противостоя тем самым смерти и разрушению органического вещества. Хлорофилл играет центральную роль в фотосинтетическом накоплении и преобразовании солнечной энергии в энер-



Структурные формулы молекул хлорофилла и его предшественника в биосинтезе – протопорфирина IX
 Structural formulae of a molecule of chlorophyll and its precursor in the biosynthesis – protoporphyrin IX

гию химических связей синтезируемых растениями органических веществ. В фотосинтезе хлорофилл выполняет две функции – собирает энергию солнечного света в виде фотонов, входя в состав хлорофилл-белковых светособирающих комплексов антенны (ССК), и передает ее хлорофилл-белковым комплексам реакционных центров (РЦ), где эта энергия используется для отрыва электронов от молекул хлорофилла и их передачи в электрон-транспортную цепь для синтеза соединений, участвующих в последующем усвоении атмосферного CO₂. Расшифровкой сложнейших биофизических, биохимических и молекулярных механизмов преобразования энергии в ходе фотосинтеза ученые всего мира занимаются вот уже почти 250 лет. Вопросу изучения хлорофилла, согласно числу публикаций о химических соединениях, отводится едва ли не первое место, и список работ по этой тематике непрерывно пополняется.

История становления науки о хлорофилле в Беларуси тесно связана с именами двух выдающихся ученых – академиком Белорусской академии наук, заслуженным деятелем науки БССР, доктором биологических наук, профессором Тихоном Николаевичем Годневым и его учеником – членом-корреспондентом Российской академии наук, доктором биологических наук, профессором Александром Аркадьевичем Шлыком. Благодаря им в республике сложилась и получила успешное развитие признанная во всем мире научная школа по исследованию процессов хлорофиллообразования и организации аппарата фотосинтеза.



Тихон Николаевич Годнев
 Tikhon Nikolayevich Godnev



Александр Аркадьевич Шлык
Shlyk Alexander Arkadyevich

Т. Н. Годнев (1893–1982) – крупнейший ученый в области теории образования и состояния хлорофилла в растении. Им были выдвинуты две блестящие гипотезы (задолго до их подтверждения экспериментальными данными) о первичном образовании хлорофилла через монопирролы и последующее объединение последних в систему порфина через лейкосоединения типа порфириногенов. Он развил представление о едином процессе синтеза хлорофилла и гема из углеводов и относительно постоянном количестве хлорофилла в единице объема хлоропластов. Под его научным руководством было исследовано влияние световых и температурных условий на состав фотосинтетических пигментов. Т. Н. Годнев подготовил много специалистов высокой квалификации, связавших свою научную жизнь с изучением хлорофилла и фотосинтеза. Им опубликовано более 300 научных работ, среди которых широко известная монография «Хлорофилл. Его строение и образование в растении» [1], за которую Т. Н. Годневу в 1967 г. была присуждена премия им. К. А. Тимирязева АН СССР. Т. Н. Годнев подготовил более 10 кандидатов и 5 докторов наук.

А. А. Шлык (1928–1984), основатель Института фотобиологии АН Беларуси (ныне Институт биофизики и кле-

точной инженерии НАН Беларуси), блестящий экспериментатор и энциклопедист в области растительной биохимии, осуществил глубокие исследования биосинтеза хлорофилла и регуляции этого процесса, признанные оригинальными не только в белорусской, но и в мировой науке.

Под его руководством впервые в Беларуси уже в 1951 г. для изучения биосинтеза хлорофилла был использован метод меченых атомов, что позволило доказать постоянное обновление хлорофилла на всех стадиях развития фотосинтетического аппарата у высших растений, водорослей и фотосинтезирующих бактерий, установить физиологическое значение этого процесса. Им были раскрыты механизмы биосинтеза хлорофилла и его регуляции, выявлена метаболическая гетерогенность хлорофилловых пигментов, а также фотосинтетических мембран, что дало представление о существовании особых участков мембран (названных «центрами биосинтеза хлорофилла» (ЦБХ)), функционирование которых обеспечивается высокоорганизованными полиферментными комплексами. В работах А. А. Шлыка и его учеников установлена гетерогенность ЦБХ, поставляющих хлорофиллы разным пигмент-белковым комплексам фотосинтетического аппарата – ССК и РЦ. Это открыло перспективы управления процессом формирования и функционирования фотосинтетического аппарата в конкретных условиях произрастания растений и в процессе адаптации при изменении условий окружающей среды. Выявлен новый класс субмембранных частиц хлоропластов, сохраняющих нативную молекулярную организацию и осуществляющих первичные фотофизические и фотохимические реакции фотосинтеза. А. А. Шлык – автор более 300 научных работ, в том числе 2 монографий: «Метод меченых атомов в изучении биосинтеза хлорофилла», «Метаболизм хлорофилла в зеленом растении» [2, 3]. Он подготовил 34 кандидата и 8 докторов наук.

Продолжение и развитие исследований фотосинтетической школы нашло отражение в работах многочисленных учеников Т. Н. Годнева и А. А. Шлыка. В 1981 г. в Институте фотобиологии АН БССР по инициативе А. А. Шлыка была создана лаборатория физиологии фотосинтетического аппарата, которую возглавила член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор Мария Тихоновна Чайка (1929–1997).

Главным научным направлением работы новой лаборатории явилось изучение физиологических основ формирования фотосинтетического аппарата и его взаимосвязи с высокой продуктивностью и устойчивостью растений. Успешному развитию данного научного направления способствовали проводимые в лаборатории фундаментальные исследования биогенеза мембранной

системы фотосинтетического аппарата при переходе растений от гетеротрофного к автотрофному существованию. Сотрудниками лаборатории во главе с М. Т. Чайка установлено, что ранние этапы биогенеза фотосинтетических мембран в зеленеющих этиолированных проростках ячменя осуществляются главным образом на базе белков этиопластов. Получены доказательства возможности синтеза апобелков РЦ фотосистемы 1 (РЦ ФС 1) и светособирающего комплекса фотосистемы 2 (ССК-2) в отсутствие хлорофилла. Обнаружена несинхронность в накоплении хлорофилловых пигментов и апобелков РЦ ФС 1 и ССК-2 в ответ на активирование фитохромной системы в зеленеющих проростках, указывающая на разные механизмы фоторегуляции пигментной и белковой составляющих этих комплексов. Впервые установлено, что координация сборки ССК-2 регулируется на посттрансляционном уровне непосредственно в месте его локализации в мембране, а также доказано участие в синтезе хлорофилла в зеленых листьях протохлорофиллидоксиоредуктазы (ПОР), идентичной ферменту, присутствующему в этиопластах. ПОР была обнаружена



Мария Тихоновна Чайка
Maria Tikhonovna Chaika

в различных внутривнутрихлоропластных компартментах освещенных зеленых листьев, включая фотосинтетические мембраны и пластидную оболочку, и не являлась интегральным компонентом пигмент-белковых комплексов. Установлено также, что стадия включения ПОР в систему биосинтеза хлорофилла является определяющей в регуляции процесса его синтеза при переходе от темноты к свету. Под руководством М. Т. Чайка в лаборатории получены новые данные об органоспецифических особенностях регуляции пластидогенеза и биогенеза пигментного аппарата и установлена иерархия основных регуляторных процессов. Полученные результаты нашли отражение в монографии М. Т. Чайка, Г. Е. Савченко «Биосинтез хлорофилла в процессе развития пластид» [4] и в коллективной монографии Н. Г. Аверина, А. Б. Рудой, Г. Е. Савченко, Л. И. Фрадкин, М. Т. Чайка и др. «Биогенез пигментного аппарата фотосинтеза» [5]. М. Т. Чайка подготовила 8 кандидатов наук.

Следует отметить большой вклад в развитие фотосинтетической школы лауреата Государственной премии Республики Беларусь академика НАН Беларуси, доктора биологических наук, профессора Игоря Дмитриевича Волотовского, который возглавлял Институт с 1984 по 2010 г. Под руководством академика И. Д. Волотовского наряду с изучением фотосинтеза значительно расширены исследования и других фотобиологических процессов в растениях. В институте получило развитие новое научное направление, связанное с раскрытием механизмов действия в растительной клетке фоторегуляторных рецепторных пигментов и в первую очередь фитохрома, который участвует в сигнальном контроле биосинтеза пигментов и биогенеза фотосинтетического аппарата [6].

Современные научные достижения белорусских биофизиков-фотосинтетиков. В конце XX в. в Институте фотобиологии НАН Беларуси получили развитие новые научные направления, связанные с выяснением молекулярной организации пигмент-белковых ансамблей, регуляторных аспектов биосинтеза хлорофилла, формирования аппарата фотосинтеза и его функциональной активности [7, 8]. Основные достижения белорусских фотобиологов и биофизиков в области фотосинтеза обобщены в коллективной монографии «Фотобиология и мембранная биофизика», подготовленной в связи с 25-летием Института фотобиологии НАН Беларуси и 70-летием его первого директора – члена-корреспондента АН СССР А. А. Шлыка и изданной в 1999 г. под редакцией академика И. Д. Волотовского [9]. С момента выпуска данной монографии прошло 18 лет. Сейчас пришло время задуматься о подготовке новой коллективной монографии, отражающей развитие института за последующие годы его существования.

Большое внимание последние 25 лет уделялось изучению взаимосвязи структурных перестроек аппарата фотосинтеза на молекулярном и мембранном уровнях организации и изменению его функциональной активности при воздействии повреждающих (экстремальных) факторов разной природы, что стало особенно актуально в связи с глобальным изменением климата и загрязнением окружающей среды. Результаты изучения основных компонентов системы биосинтеза хлорофилла, их пространственной локализации и регуляторных аспектов биогенеза фотосинтетических мембран хлоропластов послужили основой для исследований фотосинтетической функции на уровне клетки, целого растения и посева. В лаборатории прикладной биофизики и биохимии под руководством члена-корреспондента Л. Ф. Кабашниковой были установлены закономерности процессов формирования и функционирования фотосинтетического аппарата (ФСА) хлебных злаков на разных уровнях системной организации и этапах онтогенетического развития растений при действии стрессовых факторов и роль ФСА в реализации потенциала продуктивности злаковых растений в изменяющихся условиях внешней среды. Важным научным достижением явилась разработка концепции повышения продуктивности и устойчивости растений хлебных злаков на основе оптимизации структурно-функционального состояния ФСА. Кроме того, с целью разработки биофизических методов диагностики структурно-функционального состояния культурных растений в изменяющихся условиях окружающей среды, а также адаптивных технологий для сельского хозяйства в лаборатории активно развивается новое научное направление – биофизика стресса растений. Полученные результаты нашли отражение в двух монографиях Л. Ф. Кабашниковой – «Фотосинтетический аппарат и потенциал продуктивности хлебных злаков» [10] и «Фотосинтетический аппарат и стресс у растений» [11].

Чрезвычайно плодотворным оказалось направление, связанное с изучением метаболизма промежуточных продуктов биосинтеза хлорофилла – порфиринов. В лаборатории биофизики и биохимии фотосинтетического аппарата под руководством доктора биологических наук, профессора Н. Г. Авериной было установлено, что молекулы порфиринов, в частности протопорфирина IX (см. рисунок) и его магниевое хелата, находятся в мономерном состоянии и энергетически изолированы от каротиноидов, что делает их потенциальными фотосенсибилизаторами окислительных деструктивных процессов в растениях. Исследованы фотофизические и фотохимические процессы, лежащие в основе фотодинамических повреждений растительных клеток с нарушенным метаболизмом порфиринов, разработаны композиции фотодинамических гербицидов, в основе действия которых лежит индукция сверхнакопления порфиринов, изучена природа их селективности. По итогам этой серии исследований получено 5 авторских свидетельств.

Установлены выработанные растениями в процессе эволюции механизмы, защищающие их от избыточного накопления порфиринов на генетическом уровне. К этим механизмам можно отнести пластидно-ядерную сигнализацию, вызывающую ингибирование экспрессии ядерных генов, кодирующих ключевые ферменты системы биосинтеза хлорофилла, а также эффективный перенос энергии возбуждения от порфиринов к агрегированной форме предшественника хлорофилла – фотодинамически неактивным молекулам протохлорофиллида, благодаря чему снижается уровень порфиринов в триплетном состоянии, из которого и происходит генерация активных форм кислорода. Выявлена перспективная мишень в системе синтеза хлорофилла для действия фотодинамических гербицидов – уропорфириноген III-декарбоксилаза. Наряду с этим экспериментально обоснована возможность повышения устойчивости растений к фотодинамическим процессам, а также установлены механизмы регуляции функционирования последних. Эти достижения отражены в монографиях члена-корреспондента Н. В. Шалыго «Биосинтез хлорофилла и фотодинамические процессы в растениях» [12] и Н. Г. Авериной, Е. Б. Яронской «Биосинтез тетрапирролов в растениях» [13].

Доктором биологических наук, профессором Н. Г. Авериной совместно с доктором биологических наук Е. Б. Яронской детально изучено функционирование в растительной клетке систем биосинтеза хлорофилла и гема. Постулировано, что в хлоропластах высших растений эти две системы функционируют независимо и пространственно разобщены, раскрыты механизмы контроля их активности. Установлен новый принцип управления активностью ферментов, который, в отличие от хорошо известного *feed back* механизма, представляет собой *feed forward* механизм,

в основе которого лежит «подгонка» активности ферментов промежуточных этапов биосинтеза хлорофилла через посттрансляционную модификацию белков к активности начального звена – синтеза молекул 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК). Получены новые данные о характере взаимодействия пластидных сигналов между пластидой и ядром. Обнаружено, что контроль функционирования ключевых ферментов синтеза хлорофилла, участвующих в образовании АЛК и магний-протопорфирина IX, осуществляется в результате взаимодействия сигнальных цепей, инициируемых светом, цитокининами и пластидным сигналом. Сформулирована концепция функциональной гетерогенности АЛК в хлоропласте, которая является не только универсальным предшественником всех тетрапирролов в растении, но и обладает свойствами фотогербицида, регулятора роста растений и адаптогена. Показано, что в основе рострегулирующей активности АЛК лежит связь ее метаболизма с метаболизмом фитогормонов цитокининов, что позволяет управлять ростом, развитием и продуктивностью растений с помощью экзогенной АЛК посредством направленного изменения уровня эндогенных цитокининов. В основе адаптогенного действия АЛК лежит стимуляция белкового метаболизма через активацию ассимиляции неорганического азота за счет повышения экспрессии гена нитратредуктазы, количества фермента, его активности, а также вследствие переключения метаболизма глутаминовой кислоты с пути синтеза эндогенной АЛК на путь синтеза стресс-протектора пролина, стимуляции биосинтеза последнего и возрастания стрессоустойчивости растений. Эти достижения отражены в монографии Н. Г. Авериной и Е. Б. Яронской «Биосинтез тетрапирролов в растениях» [13].

В настоящее время в рамках фотосинтетической научной школы получили развитие новые направления. Одно из них – это прикладная альгология, развитию которой положил начало кандидат биологических наук С. С. Мельников, а с 2002 г. исследования в этом направлении продолжил заведующий лабораторией биофизики и биохимии растительной клетки член-корреспондент Н. В. Шалыго. Ранее микроскопические водоросли использовались как модельные объекты для решения фундаментальных проблем фотосинтеза. Однако проведенный цикл фундаментальных и прикладных работ, в ходе которых были оптимизированы продуктивность водоросли и каротиногенез (накопление β -каротина), позволил разработать малозатратную технологию получения суспензии хлореллы – кормовой добавки для сельскохозяйственных животных, птицы и рыб. В октябре 2015 г. постановлением Президиума НАН Беларуси при лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки создан Республиканский центр альгологии (РЦА). Центр имеет собственное производство кормовой добавки (суспензии хлореллы) с расчетной мощностью 250 т/год и коллекцию хозяйственно полезных водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, насчитывающую более 50 альгообразцов. Основу кадрового состава РЦА составили представители научной школы по фотосинтезу. Руководство РЦА возложено на члена-корреспондента Н. В. Шалыго. В РЦА активно ведутся работы по оптимизации накопления хлорофилла *a* клетками сине-зеленой водоросли спирулины с целью использования ее биомассы в качестве источника феофитина *a*, из которого получают хлорин e_6 – действующее вещество отечественного препарата Фотолон, используемого для фотодинамической терапии онкологических заболеваний.

В лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки под научным руководством Н. Г. Авериной выявлен комплекс защитных механизмов, запускаемых в растениях озимого рапса, выращиваемых в присутствии индуктора фотодинамических процессов (высоких концентраций экзогенной АЛК), включающих подавление поступления экзогенной АЛК в систему синтеза тетрапирролов хлорофильной природы, индукцию накопления антиоксидантов – антоцианов, что обеспечивает практически двукратное возрастание активности дигидрофлавонолредуктазы, повышение содержания антистрессора пролина, а также возрастание активности супероксидредуктазы, антиоксидантной и антирадикальной активности и в целом приводит к существенному снижению уровня перекисного окисления липидов внутриклеточных мембран [14]. На фоне подавления фотосинтетической активности и нарушения структурной организации ФСА выявлено развитие компенсаторных реакций, выражающееся в возмещении нарушений фотосинтетической функции за счет увеличения дыхательной активности, обеспечиваемой стимуляцией биосинтеза нековалентно связанного с белками гема, и возрастанием активности гем-содержащего фермента цитохром *c*-оксидазы и альтернативной оксидазы.

В этой же лаборатории под научным руководством члена-корреспондента Н. В. Шалыго установлено, что ФСА растений огурца адаптируется к свету красных (630–650 нм) и синих (450–465 нм) светодиодов, используемых как по отдельности, так и совместно, что проявляется в активации нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, уменьшении размера внешних антенн ФС 2 и увеличении числа ее реакционных центров. Такая адаптация протекает более интенсивно и оказывается эффективнее при использовании синего света, а также в случае совместного применения красных и синих светодиодов. Показано, что при выращивании растений огурца под светильниками, в которых используются одновременно красные, синие, желтые (590–595 нм) и голубые (465–485 нм) светодиоды, активность ФСА достигает значений, регистрируемых при свете белых люминесцентных ламп [15]. Полученные результаты являются научной основой для создания энергосберегающих светодиодных источников света, оптимизированных для выращивания сельскохозяйственных культур в закрытом грунте.

В лаборатории прикладной биофизики и биохимии под научным руководством члена-корреспондента Л. Ф. Кабашниковой изучено влияние β -1,3-глюкана на структурно-функциональное состояние фотосинтетических мембран томата при фузариозном увядании. Установлено, что инфицирование растений томата *Fusarium oxisporum* вызывает существенные изменения структурно-функционального состояния фотосинтетических мембран, что выражается в снижении содержания Хл *a*, соотношения Хл *a*/Хл *b*, нарушении процессов поглощения и утилизации световой энергии в ФС 2 фотосинтеза. Предобработка растений β -1,3-глюканом нормализует протекание фотохимических процессов в хлоропластах инфицированных листьев, что свидетельствует о защитной активности препарата [16].

Достижения белорусской школы биофизиков-фотосинтетиков высоко оценены научной общественностью. В 2013 г. за цикл работ «Система биосинтеза хлорофилла и фотосинтетический аппарат как факторы повышения устойчивости и продуктивности сельскохозяйственных культур» коллективу авторов в составе Н. Г. Авериной, Л. Ф. Кабашниковой, Н. В. Шалыго присуждена премия НАН Беларуси.

В перспективе основное внимание белорусских биофизиков-фотосинтетиков планируется сосредоточить на следующих актуальных научных направлениях:

изучение биофизики стресса растений с целью разработки адаптивных и диагностических технологий для сельского хозяйства;

развитие информационных и космических технологий с целью использования фотосинтетических показателей для оценки состояния агроэкосистем и природных растительных сообществ, прогнозирования урожая и контроля эффективности агротехнических мероприятий;

моделирование биосистем и создание интеллектуальных программ для диагностики физиологического состояния растений;

разработка новых альтернативных сырьевых растительных источников антоцианов для нужд пищевой и фармакологической отраслей промышленности.

получение методами метаболической инженерии обогащенных биологически активными соединениями штаммов микроводорослей, значимых для сельскохозяйственного производства, практической медицины и фармакологии, и использование биомассы водорослей и продуктов ее переработки в разных отраслях экономики.

Список использованных источников

1. Годнев, Т. Н. Хлорофилл. Его строение и образование в растении / Т. Н. Годнев. – Минск : Изд-во Акад. наук БССР, 1963. – 318 с.
2. Шлык, А. А. Метод меченых атомов в изучении биосинтеза хлорофилла / А. А. Шлык. – Минск : Изд-во Акад. наук БССР, 1956. – 299 с.
3. Шлык, А. А. Метаболизм хлорофилла в зеленом растении / А. А. Шлык. – Минск : Наука и техника, 1965. – 396 с.
4. Чайка, М. Т. Биосинтез хлорофилла в процессе развития пластид / М. Т. Чайка, Г. Е. Савченко. – Минск : Наука и техника, 1981. – 168 с.
5. Биогенез пигментного аппарата фотосинтеза / Н. Г. Аверина [и др.] ; науч. ред. Ф. Ф. Литвин. – Минск : Наука и техника, 1988. – 319 с.

6. Волотовский, И. Д. Фитохром – регуляторный фоторецептор растений / И. Д. Волотовский. – Минск : Наука и техника, 1992. – 168 с.
7. Чайка, М. Т. Биосинтез хлорофилла и биогенез фотосинтетического аппарата : доложено на 54-м ежегодном Тимирязевском чтении 3 июня 1993 г. / М. Т. Чайка ; Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева Рос. акад. наук. – Минск : Ротапринт, 1996. – 79 с.
8. Averina, N. G. Mechanisms of regulation and interplastid localization of chlorophyll biosynthesis / N. G. Averina // *Membrane and Cell Biology*. – 1998. – Vol. 12, N 5. – P. 627–643.
9. Фотобиология и мембранная биофизика / Н. Г. Аверина [и др.] ; под ред. И. Д. Волотовского – Минск : Технопринт, 1999. – 349 с.
10. Кабашникова, Л. Ф. Фотосинтетический аппарат и потенциал продуктивности хлебных злаков / Л. Ф. Кабашникова. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 327 с.
11. Кабашникова, Л. Ф. Фотосинтетический аппарат и стресс у растений / Л. Ф. Кабашникова. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 267 с.
12. Шалыго, Н. В. Биосинтез хлорофилла и фотодинамические процессы в растениях / Н. В. Шалыго. – Минск : Право и экономика, 2004. – 154 с.
13. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 413 с.
14. Индукция накопления антоцианов и состояние защитной системы в растениях озимого рапса, обработанных 5-аминолевулиновой кислотой / Н. Г. Аверина [и др.] // *Физиология растений*. – 2017. – Т. 64, № 3. – С. 173–182.
15. Вязов, Е. В. Активность фотосинтетического аппарата и защитная система растений огурца (*Cucumis sativus* L.) при узкополосном освещении различного спектрального состава / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2016. – № 4. – С. 19–26.
16. Кабашникова, Л. Ф. Действие β -1,3-глюкана на структурно-функциональное состояние фотосинтетических мембран томата при фузариозном увядании / Л. Ф. Кабашникова, Л. М. Абрамчик // *Докл. Нац. акад. наук Беларусі*. – 2017. – Т. 61, № 6. – С. 66–72.

References

1. Godnev T. N. *Chlorophyll. Its structure and synthesis in plants*. Minsk, Publishing of the Academy of Sciences of the Belorussian SSR, 1963. 318 p. (in Russian).
2. Shlyk A. A. *The method of labeled atoms in the study of the biosynthesis of chlorophyll*. Minsk, Publishing of the Academy of Sciences of the Belorussian SSR, 1956. 299 p. (in Russian).
3. Shlyk A. A. *Metabolism of chlorophyll in a green plant*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1965. 396 p. (in Russian).
4. Chaika M. T., Savchenko G. E. *Biosynthesis of chlorophyll in the development of plastids*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1981. 168 p. (in Russian).
5. Litvin F. F. (ed.). *Biogenesis of the pigmentary apparatus of photosynthesis*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1988. 319 p. (in Russian).
6. Volotovskii I. D. *Phytochrome – regulatory photoreceptor of plants*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1992. 168 p. (in Russian).
7. Chaika M. T. *Biosynthesis of chlorophyll and biogenesis of photosynthetic apparatus: reported at the 54th annual Timiryazev reading on June 3, 1993*. Minsk, Rotaprint Publ., 1996. 79 p. (in Russian).
8. Averina N. G. Mechanisms of regulation and interplastid localization of chlorophyll biosynthesis. *Membrane and Cell Biology*, 1998, vol. 12, no. 5, pp. 627–643.
9. Volotovskiy I. D. (ed.). *Photobiology and membrane biophysics*. Minsk, Tekhnoprint Publ., 1999. 349 p. (in Russian).
10. Kabashnikova L. F. *The photosynthetic apparatus and the productivity potential of cereals*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 327 p. (in Russian).
11. Kabashnikova L. F. *Photosynthetic apparatus and stress in plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 267 p. (in Russian).
12. Shalygo N. V. *Biosynthesis of chlorophyll and photodynamic processes in plants*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2004. 154 p. (in Russian).
13. Averina N. G., Yaronkaya E. B. *Biosynthesis of tetrapyrroles in plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 413 p. (in Russian).
14. Averina N. G., Shcherbakov R. A., Emel'yanova A. V., Domanskaya I. N., Usatov A. V. Induction of anthocyanin accumulation and the state of the defense system in plants of winter rapeseed treated with 5-aminolevulinic acid. *Fiziologiya rastenii = Plant Physiology*, 2017, vol. 64, no. 3, pp. 173–182 (in Russian).
15. Vyazov E. V., Shalygo N. V. Photosynthetic apparatus and defense system of cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants under LED lighting of different spectral composition. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 4, pp. 19–26 (in Russian).
16. Kabashnikova L. F., Abramchik L. M. Influence of β -1,3-glucan on the structural-functional state of photosynthetic tomato membranes during fusarium wilt. *Doklady Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi = Reports of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2017, vol. 61, no. 6, pp. 66–72 (in Russian).

Информация об авторах

Аверина Наталья Георгиевна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: averina@ibp.org.by.

Кабашникова Людмила Федоровна – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kabashnikova@ibp.org.by.

Шалыго Николай Владимирович – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shalygo@ibp.org.by.

Волотовский Игорь Дмитриевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volotovski@yahoo.com.

Information about the authors

Natalia G. Averina – D. Sc. (Biol.), Professor, Chief researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: averina@ibp.org.by.

Liudmila F. Kabashnikova – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Associated Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kabashnikova@ibp.org.by.

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Associated Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shalygo@ibp.org.by.

Igor D. Volotovskii – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volotovski@yahoo.com.