

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2019. Т. 64, № 1

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2019. Т. 64, № 1

Журнал основан в 1956 г. как «Весці Акадэміі навук БССР. Серыя біялагічных навук»,
с 1992 г. – «Весці Акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук»,
с 1998 г. – современное название

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 395 от 18.05.2009

*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. 2019. Т. 64, № 1.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Н. И. Кащуба*

Подписано в печать 17.01.2019. Выход в свет 30.01.2019. Формат 60×84^{1/8}. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 82 экз. Заказ 11.
Цена номера: индивидуальная подписка – 11,74 руб., ведомственная подписка – 28,19 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, 2019

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2019, vol. 64, no. 1

The Journal was founded in 1956 under the title
“Proceedings of the Academy of Sciences of BSSR. Biological series”,
since 1992 – “Proceedings of the Academy of Sciences of Belarus. Biological series”,
since 1998 it comes under its actual title

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
Vasilii 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 – Warszaw University of Life Sciences, Warszaw, 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, 2019, vol. 64, no. 1.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *V. L. Smolskaya*

Sent for press 17.01.2019. Output 30.01.2019. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 82 copies. Order 11.
Number price: individual subscription – 11,74 byn., departmental subscription – 28,19 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, 2019

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

ЗМЕСТ

Жидецкий А. В., Потапович М. И., Кудина И. В., Прокулевич В. А., Шолух М. В. Условия выделения рекомбинантного бычьего альфа-интерферона из телец включения <i>E. coli</i>	7
Володько И. К., Завадская Л. В. Коллекция нарцисса гибридного (<i>Narcissus</i> × <i>Hybridus</i> Hort.) Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси и методические аспекты ее оценки.....	18
Келько А. Ф., Торчик В. И., Холопук Г. А. Особенности регенерации и роста стеблевых черенков декоративных форм рода <i>Juniperus</i> L., перспективных для зеленого строительства Беларуси	27
Цеханович С. В. Методика комплексной оценки сортов хризантемы корейской (<i>Chrysanthemum coreanum</i>), интродуцированных в Беларусь	33
Яцына А. П. Лишайники рода <i>Lepraria</i> в Беларуси: экология и распространение видов.....	40
Рупасова Ж. А., Яковлев А. П., Антохина С. П., Вашкевич М. Н., Ярошук А. А., Алещенкова З. М., Коломиец Э. И. Особенности роста виргинильных растений голубики на выработанном торфяном месторождении при внесении минеральных и микробных удобрений	48
Сливинска К. Сравнительный морфометрический анализ популяций длиннопалого рака <i>Pontastacus leptodactylus</i> Западного Полесья	60
Макаренко А. И. Особенности процесса размножения чужеродных видов амфипод (Crustacea, Amphipoda) в условиях водотоков Беларуси	72
Урбанчик Е. Н., Сапунова Л. И., Галдова М. Н., Малашенко А. И., Тамкович И. О., Мороз И. В., Павлюк А. Н. Интенсификация процесса получения пророщенного зернового сырья с использованием ферментных препаратов комплексного действия.....	82
Копылова Н. А., Калацкая Ж. Н., Ламан Н. А. Количественное определение кинетина в коммерческих препаратах методом ВЭЖХ	92
Арашкова А. А. Грибостойкость строительных блоков в условиях модельного эксперимента	96
Караневский Р. И., Торчик В. И. Характер естественного возобновления видов рода <i>Abies</i> Mill. в условиях Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси.....	102
Бакей С. К. Всхожесть семян инвазивных видов растений рода Золотарник (<i>Solidago</i>).....	107

Агляды

Капустина Ю. М., Рубаник Л. В. Современные подходы к генотипированию <i>Chlamydia trachomatis</i>	112
--	-----

Вучоныя Беларусі

Памяти члена-корреспондента АН СССР Александра Аркадьевича Шлыка (К 90-летию со дня рождения)	125
---	-----

CONTENTS

Zhydzetski A. V., Patapovich M. I., Kudina I. V., Prakulevich U. A., Sholukh M. V. Selection conditions of the recombinant bovine α -interferon from <i>E. coli</i> inclusion bodies	7
Volodko I. K., Zavadskaya L. V. Collection of the daffodils (<i>Narcissus</i> \times <i>Hybridus</i> Hort.) of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus and methodological aspects of the evaluation of its cultivars	18
Kelko H. F., Torchyk U. I., Kholopuk G. A. Features of regeneration and growth of stem cuttings of decorative forms of the genus <i>Juniperus</i> L., promising for green construction in Belarus	27
Tsekhanovich S. V. The technique of integrated assessment of varieties of Korean chrysanthemum (<i>Chrysanthemum coreanum</i>), introduced in Belarus	33
Yatsyna A. P. Lichens genus <i>Lepraria</i> in Belarus: ecology and distribution of species	40
Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Antokhina S. P., Vashkevich M. N., Yaroshuk A. A., Aleshchenkova Z. M., Kolomiets E. I. Peculiarities of the growth of virgin blueberry plants on the developed peat deposit with the application of mineral and microbial fertilizers	48
Śliwińska K. Morphometric comparison of the narrow-clawed crayfish <i>Pontastacus leptodactylus</i> populations from the western part of the Polesye region	60
Makaranka A. I. Features of the reproduction processes of amphipods (Crustacea, Amphipoda) alien species in the conditions of Belarus watercourses	72
Ourbantchik E. M., Sapunova L. I., Galdova M. M., Malashenko A. I., Tamkovich I. A., Maroz I. V., Pauliuk A. M. Intensification of grain sprouting process using complex enzyme preparations	82
Kopylova N. A., Kalatskaya J. N., Laman N. A. Quantitative determination of kinetin in commercial preparations by HPLC	92
Arashkova A. A. Mould resistance of building blocks in the conditions of model experiment	96
Karaneuski R. I., Torchyk U. I. The nature of the natural renewal of species of the genus <i>Abies</i> Mill. in the conditions of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus	102
Bakei S. K. Seed germination of invasive plant species of the genus Goldenrod (<i>Solidago</i>)	107
Reviews	
Kapustina Yu. M., Rubanik L. V. Modern approaches to studying and genotyping <i>Chlamydia trachomatis</i>	112

Scientists of Belarus

In memory of Corresponding Member of the USSR Academy of Sciences Alexander Arkadyevich Shlyk (To the 90th birthday)	125
--	-----

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

УДК 577.112.083
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-7-17>

Поступила в редакцию 05.06.2018
Received 05.06.2018

А. В. Жидецкий, М. И. Потапович, И. В. Кудина, В. А. Прокулевич, М. В. Шолух

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

УСЛОВИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО БЫЧЬЕГО АЛЬФА-ИНТЕРФЕРОНА ИЗ ТЕЛЕЦ ВКЛЮЧЕНИЯ *E. COLI*

Аннотация. Эффективность рекомбинантного бычьего альфа-интерферона (rbIFN- α), как и других белков данной группы, обусловлена тем, что при проведении противовирусной терапии он стимулирует и модулирует противовирусную активность ряда клеток-мишеней в ответ на вирусную атаку.

Данное исследование посвящено определению оптимальных условий выделения, очистки и рефолдинга методом разведения rbIFN- α из телец включения (ТВ) *E. coli*. Основными методами являлись спектрофотометрические, электрофоретические, хроматографические и рефолдинг методом разведения.

Двухстадийная отмывка ТВ растворами на основе 50 ммоль/л Трис, 50 ммоль/л NaCl и 3,5 моль/л мочевины и их последующая солюбилизация в растворе с 50 ммоль/л Трис-HCl, pH 9,0, 8 моль/л мочевины и 20 ммоль/л β -меркаптоэтанола позволили получить целевой белок в мономерной форме с чистотой $53,18 \pm 9,3$ %. Применение тандемной ионообменной хроматографии на последовательно соединенных колонках с DE 52 целлюлозой и тоуоперл DEAE-650 M дало возможность получить целевой rbIFN- α с чистотой $80,7 \pm 8,6$ %. В результате скрининга основных характеристик определен следующий состав рефолдинга буфера для проведения ренатурации рекомбинантного rbIFN- α : 10 ммоль/л NaPB, pH 7,4, 0,4 моль/л сахараза, 1 ммоль/л ЭДТА, 1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистина, 0,05 % Kolliphor EL. На конечном этапе сбора целевого белка с помощью данной системы выход мономерной формы rbIFN- α составил $20,44 \pm 1,1$ %, чистота – 98,43 %, активность – $(5 \pm 3,6) \cdot 10^6$ МЕ/мг.

Ключевые слова: рекомбинантный бычий α -интерферон, рефолдинг белка, тельца включения, агрегация белков

Для цитирования: Условия выделения рекомбинантного бычьего альфа-интерферона из телец включения *E. coli* / А. В. Жидецкий [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 7–17. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-7-17>

A. V. Zhydzetski, M. I. Patapovich, I. V. Kudina, U. A. Prakulevich, M. V. Sholukh

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

SELECTION CONDITIONS OF THE RECOMBINANT BOVINE α -INTERFERON FROM *E. COLI* INCLUSION BODIES

Abstract. Like other proteins of the cytokine family, bovine α -interferon activates and modulates antiviral state of the target cells and inhibits division and growth of the infected cells which makes it an excellent candidate as a new antiviral therapeutic agent.

This study is concerned with the determination of the optimal isolation, purification and refolding conditions of the recombinant bovine interferon- α (rbIFN- α) from inclusion bodies (IBs). Main methods used were UV/Visible spectroscopy, electrophoresis, liquid chromatography and refolding by dilution.

It was found that two step IBs washing with solutions containing 50 mmol/l Tris, 50 mmol/l NaCl and 3.5 mol/l urea and their subsequent solubilization in 50 mmol/l Tris-HCl, pH 9.8 mol/l Urea and 20 mmol/l β -mercaptoethanol allow us to receive the target protein in monomeric form and 53.18 ± 9.3 % purity. Further application of the anion-exchange tandem chromatography on DE 52 cellulose and toyopearl DEAE-650 M gives a possibility to remove the major impurities and obtain rbIFN- α with 80.7 ± 8.6 % purity. Refolding by dilution in the buffer containing 20 mmol/l NaPB, pH 7.4, 0.4 mol/l sucrose, 1 mmol/l L-Cys, 0.1 mmol/l L-Cystine, 1 mmol/l EDTA, 0.05 % Kolliphor EL at 10 °C followed by the protein collection allows to get the recombinant rbIFN- α in homogeneous state, with 98.43 % purity and antiviral activity about $(5 \pm 3.6) \cdot 10^6$ U/mg.

Keywords: recombinant bovine interferon- α , protein refolding, inclusion bodies, protein aggregation

For citation: Zhydzetski A. V., Patapovich M. I., Kudina I. V., Prakulevich U. A., Sholukh M. V. Selection conditions of the recombinant bovine α -interferon from *E. coli* inclusion bodies. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 7–17 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-7-17>

Введение. Бычий альфа-интерферон (rbIFN- α) принадлежит к группе белков, продуцируемых клетками большинства позвоночных в ответ на воздействие вирусов либо агентов иной этиологии. Интерфероны стимулируют противовирусное состояние ряда клеток-мишеней, в част-

ности регулируют активность Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров, макрофагов и других клеток, вовлеченных в иммунный ответ, а также рост раковых и других пролиферирующих клеток [1–3].

Противовирусные и иммуномодулирующие свойства $gbIFN-\alpha$, а также тот факт, что данный белок предупреждает развитие ряда болезней при превентивном применении, позволяют рассматривать его в качестве противовирусного профилактического и терапевтического средства [4]. Это в свою очередь требует наличия методики получения необходимого белка в достаточных количествах, что может быть достигнуто генно-инженерным путем с накоплением рекомбинантного белка [5]. Однако зачастую такое накопление целевого продукта в клетках хозяина идет в неактивной форме в виде нерастворимых телец включения (ТВ) [6]. В настоящее время из ТВ выделяют человеческие $IFN-\gamma$, $IFN-\alpha 8$, $IFN-\alpha_{2b}$ и другие интерфероны [7–9].

Однако производство из ТВ нативных препаратов белков, в том числе и интерферонов, обладающих биологической активностью, требует разработки индивидуального подхода к их выделению, очистке и рефолдингу [10]. Несмотря на то что в настоящее время существует целый ряд методических подходов к рефолдингу рекомбинантных белков, до сих пор нет универсального, позволяющего получить любой белок в активной форме. Это связано с индивидуальными характеристиками белковой молекулы, что требует для каждого конкретного белка проведения скрининга основных условий ренатурации (значения pH, температуры, окислительно-восстановительного потенциала, типа стабилизатора) [10, 11]. В связи с этим представляется весьма эффективным и экономически выгодным разработать подход, с помощью которого можно проверить большое количество условий выделения, очистки и рефолдинга различных рекомбинантных белков.

Цель настоящей работы – апробация метода выделения, очистки и рефолдинга методом разведения $gbIFN-\alpha$ из телец включения *E. coli*, который был успешно применен нами ранее при получении рекомбинантного эфрина-A5 [12].

Объекты и методы исследования. *Отмывка телец включения.* Объектом исследования послужил рекомбинантный бычий интерферон- α из ТВ. Последние выделяли из *E. coli* с помощью описанного нами ранее метода [12]. Для определения наиболее эффективной системы отмывки ТВ от примесей проводили в два этапа. На первом использовали растворы на основе 50 и 500 ммоль/л Трис, 50 и 500 ммоль/л NaCl, 1 % изопропанола и 1 % Tween-20, на втором – растворы на основе 50 ммоль/л Трис в 1–8 моль/л мочеvine. ТВ суспендировали в растворе для отмывки в соотношении 1:20 (вес/объем), перемешивали на магнитной мешалке в течение 1 ч и центрифугировали при 15 000 g в течение 20 мин при 20 °C. Эффективность систем отмывки контролировали методом SDS-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ), проверяя белковый состав в осадке и супернатанте. Потери материала при отмывке регистрировали спектрофотометрически.

Солюбилизация телец включения. Отмытые ТВ растворяли в 50 ммоль/л Трис-HCl буфере (pH 8,0 или pH 9,0) с добавлением или без добавления β -меркаптоэтанола (ВМЕ) и в мочеvine (концентрация 6 и 8 моль/л) в течение 20–24 ч. После растворения ТВ полученный раствор центрифугировали 20 мин при 15 000 g и 20 °C. Оптимальную систему солюбилизации определяли электрофоретически по наличию мономерной формы белка и его максимальному выходу из ТВ.

Очистка $gbIFN-\alpha$ методом ионообменной хроматографии. Очистку интерферона проводили на CM-сефарозе (Amersham, Швеция) и DE 52 целлюлозе (Whatman, Великобритания). Колонки предварительно уравнивали буфером А (50 ммоль/л Трис-HCl, pH 9,0, 8 моль/л мочеvine, 10 ммоль/л ВМЕ), после чего наносили солюбилизат ТВ и промывали тем же буфером до достижения базовой линии при 280 нм. Не связавшуюся с сорбентом фракцию и фракцию, элюированную буфером А с 1 моль/л NaCl, анализировали спектрофотометрически и электрофоретически.

Рефолдинг. Условия ренатурации $gbIFN-\alpha$ методом разведения определяли на очищенном солюбилизате после проведения тандемной хроматографии на DE 52 целлюлозе и toyopearl DEAE-650 M (Tosoh, Япония). Для скрининга систем рефолдинга использовали следующие буферные агенты: MES, Трис-HCl, HEPES, MOPS, NaPB (натрий-фосфатный буфер) при pH 7,4 и антиагрегационные соединения: D-глюкозу, D-фруктозу, D-сахарозу, глицерол, ПЭГ-3000 (полиэти-

ленгликоль с M_r 3000), ПЭГ-6000 (M_r 6000), поливинилпирролидон (ПВП), Kolliphor EL (BASF, Германия), L-глицин и мочевины при температуре 10 °С. Для создания окислительно-восстановительного потенциала ренатурирующего буфера использовали пару цистин/цистеин с различным соотношением ее компонентов. Проанализировано действие 19 составов рефолдинг-буфера и проведено их сравнение по антиагрегационной эффективности, наличию целевого продукта в мономерной форме с максимальной противовирусной активностью.

Определение противовирусной активности. Противовирусную активность рекомбинантного $gbIFN-\alpha$ проверяли на культуре клеток MDBK, подвергнутых воздействию вируса везикулярного стоматита (VSV) согласно [13] с изменениями. В качестве контроля активности препаратов интерферона использовали рекомбинантный свиной α -интерферон со специфической активностью $1 \cdot 10^6$ МЕ/мл (Biomedical Laboratories, США).

SDS-электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ). Эффективность экстракции $gbIFN-\alpha$ из ТВ, чистоту белковых фракций и содержание мономерной формы целевого белка оценивали методом SDS-электрофореза в 15 %-ном полиакриламидном геле [14]. Окраску гелей проводили красителем Кумасси ярко-синим R-250 [15] либо серебром по методу Damerval с соавт. [16]. В работе использовали маркер молекулярных масс белков BlueElf 5-245 kDa (JenaBioscience). Степень чистоты оценивали с помощью программы TotalLab 2.01.

УФ-видимая спектроскопия. Концентрацию общего белка оценивали по методу Лоури в модификации Петерсона [17], агрегатное состояние белка – по светорассеиванию при 340 нм через 1 и 12 ч после инициации ренатурации [5, 10]. Степень экстракции $gbIFN-\alpha$ и примесных соединений при выборе состава растворов для отмывки и сольюбилизации ТВ определяли спектрофотометрически в диапазоне длин волн от 200 до 600 нм.

Результаты и их обсуждение. Получение рекомбинантного белка в активной форме из ТВ включало следующие этапы: сольюбилизацию ТВ растворами с высокими концентрациями сильных денатурантов (6–8 моль/л мочевины, 6 моль/л гуанидингидрохлорида), очистку целевого белка от примесных соединений и его рефолдинг [18].

Важным этапом в работе с ТВ является их подготовка к экстракции целевого продукта (сольюбилизации). Для этого проводят предварительную отмывку буферами, содержащими хаотропные агенты (0,5–2 моль/л гуанидин гидрохлорид или 1–4 моль/л мочевины) или детергенты (третон X-100, Tween-20, (дезоксид)холат натрия, саркозил, октилглюкозид) в низких концентрациях и солевых растворов [19, 20]. Такой этап необходим для удаления небелковых примесных соединений, в основном нуклеиновых кислот (НК) и липидных компонентов мембраны, а также клеточных белков, попадающих в ТВ, так как показано, что они снижают выход рефолдинга целевого продукта [18, 21]. Вместе с тем при выборе компонентов растворов для отмывки ТВ необходимо учитывать их влияние на сольюбилизацию ТВ, возможность необратимого взаимодействия с целевым белком, а также их стоимость [22].

В связи с этим для выбора условий наиболее эффективного удаления примесей на этапе отмывки ТВ нами проведен скрининг различных композиций растворов. На первом этапе работы были использованы растворы на основе NaCl, Трис, Tween-20, изопропанола в различных концентрациях.

На основании электрофореза в ПААГ (рис. 1) и данных УФ-видимой спектроскопии (результаты не приведены) установлено, что наибольшему и практически равному удалению примесных соединений без потери целевого белка способствуют растворы на основе 50 и 500 ммоль/л Трис и раствор с 500 ммоль/л NaCl, т. е. щелочное значение pH в комбинации с высокой ионной силой. Следует отметить, что балластные соединения переходят в раствор непосредственно после добавления отмывочных систем. Их выход не зависит от продолжительности инкубации ТВ в данных растворах. Это значит, что однократной промывки ТВ достаточно для удаления слабо ассоциированных с ними примесей. На основании данных спектрометрии можно заключить, что они имели нуклеиновую природу, так как максимальное поглощение растворов после отмывки ТВ отмечалось при длине волны 260 нм, свойственной для данных соединений (рис. 2) [23].

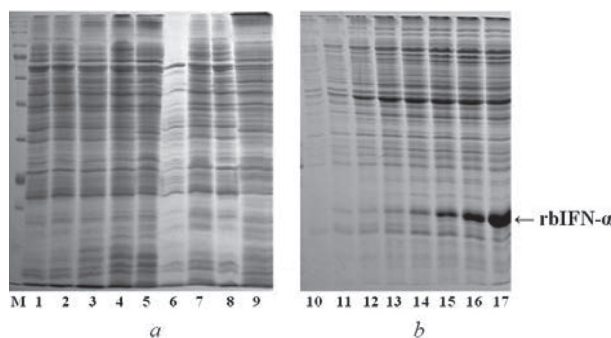


Рис. 1. Влияние состава среды на удаление белковой фракции на первом (а) и втором (б) этапе отмытки ТВ рекомбинантного *rbIFN-α*: 1 – H₂O; 2 – 0,5 моль/л NaCl; 3 – 0,5 моль/л NaCl; 4 – 0,05 моль/л Трис; 5 – 0,5 моль/л Трис; 6 – 1 % Tween-20; 7 – 1 % Triton X-100; 8 – 1 % изопропанол; 9 – 0,5 моль/л NaCl + 0,5 моль/л Трис + 1 % Tween-20 + 1 % изопропанол + 1 % Triton X-100; 10 – 0,05 моль/л Трис; 11 – 1 моль/л мочевины; 12 – 2 моль/л мочевины; 13 – 3 моль/л мочевины; 14 – 4 моль/л мочевины; 15 – 5 моль/л мочевины; 16 – 6 моль/л мочевины; 17 – 8 моль/л мочевины; М – маркер молекулярных масс белков BlueElf 5-245 kDa (JenaBioscience). 15 % SDS-ЭФ в редуцирующих условиях, окраска СВВ R-250

Fig. 1. Influence of the solution composition on protein fraction removal at the first (a) and second (b) stage of the recombinant *rbIFN-α* IBs washing: 1 – H₂O; 2 – 0.05 mol/l NaCl; 3 – 0.5 mol/l NaCl; 4 – 0.05 mol/l Tris; 5 – 0.5 mol/l Tris; 6 – 1 % Tween-20; 7 – 1 % Triton X-100; 8 – 1 % isopropanol; 9 – 0.5 mol/l NaCl + 0.5 mol/l Tris + 1 % Tween-20 + 1 % isopropanol + 1 % Triton X-100; 10 – 0.05 mol/l Tris; 11 – 1 mol/l urea; 12 – 2 mol/l urea; 13 – 3 mol/l urea; 14 – 4 mol/l urea; 15 – 5 mol/l urea; 16 – 6 mol/l urea; 17 – 8 mol/l urea; M – protein molecular weight marker BlueElf 5-245 kDa (JenaBioscience). 15 % SDS-PAGE in reducing conditions, CBB R-250 staining

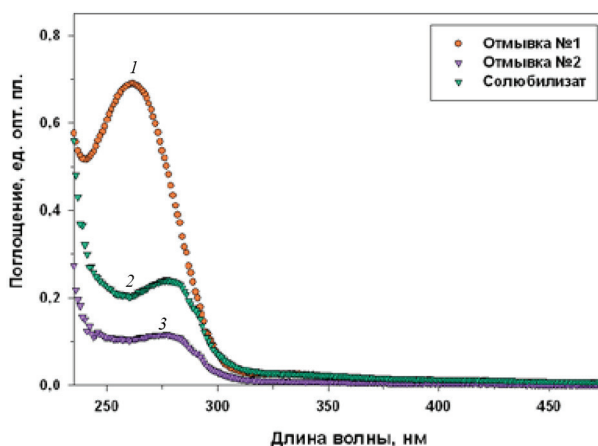


Рис. 2. Спектры поглощения образцов после отмытки и солюбилизации ТВ: 1 – супернатант после отмытки ТВ на первом этапе ($\lambda_{\max} = 260$ нм); 2 – солюбилизат ТВ ($\lambda_{\max} = 278$ нм); 3 – супернатант после отмытки ТВ на втором этапе ($\lambda_{\max} = 277$ нм)

Fig. 2. Absorbance spectra of the samples after IBs washing and solubilization: 1 – supernatant after IBs washing at the first stage ($\lambda_{\max} = 260$ nm); 2 – solubilizate of IBs ($\lambda_{\max} = 278$ nm); 3 – supernatant after IBs washing at the second stage ($\lambda_{\max} = 277$ nm)

Для удаления соединений, которые располагаются глубже в ТВ и сильнее связаны с целевым белком, применяют растворы на основе денатурантов [19, 20]. В связи с этим на втором этапе отмытки ТВ нами использованы растворы на основе мочевины.

Установлено, что с увеличением концентрации мочевины до 8 моль/л нарастает потеря массы ТВ. Причем соединения, переходящие в раствор, имеют в основном белковую природу. Заметный выход *rbIFN-α* из ТВ начинается лишь при концентрации мочевины 4 моль/л и достигает максимума при 8 моль/л (рис. 1, б).

В результате для наиболее эффективной отмытки ТВ от примесных соединений с наименьшими потерями целевого белка были выбраны следующие системы: на первой стадии – 50 ммоль/л Трис, 50 ммоль/л NaCl, на второй стадии – 50 ммоль/л Трис, 50 ммоль/л NaCl и 3,5 моль/л мочевины. Чистота *rbIFN-α* в солюбилизате отмытых ТВ составила $53,18 \pm 9,3$ %,

в то время как при растворении не отмытых ТВ целевого белка – лишь $33,29 \pm 2,08$ %. Выход отмытых ТВ rIFN- α составил 40 ± 10 % от массы исходных телец.

На следующем этапе работы для оптимизации условий солюбилизации ТВ использовали системы на основе 50 ммоль/л Трис-НСl с 6 и 8 моль/л мочевины, при рН 8,0 и рН 9,0 с и без добавления ВМЕ. Установлено, что все системы на основе 6 и 8 моль/л мочевины не приводят к полному растворению ТВ, а соответственно, и к извлечению целевого продукта. Наибольшее количество и выход мономерной формы целевого белка на основании данных электрофореза в ПААГ и спектрофотометрии обнаружено в растворе с 8 моль/л мочевины (рН 9,0) с добавлением 20 ммоль/л ВМЕ. Данный агент необходим для восстановления меж- и внутримолекулярных дисульфидных связей [20]. В результате анализа 8 систем солюбилизации ТВ с бычьим α -ИФН был выбран раствор, включающий 50 ммоль/л Трис-НСl, рН 9, 8 моль/л мочевины, 20 ммоль/л ВМЕ.

Следующий этап заключался в очистке целевого продукта из солюбилизата ТВ с применением ионообменной хроматографии. Данный этап необходим для избавления от примесей, не удаленных на стадии отмытки, которые, как уже отмечалось, существенно снижают эффективность дальнейшего процесса рефолдинга [22, 24].

В связи с тем, что в условиях солюбилизации (рН 9,0) целевой белок должен нести хоть и незначительный, но отрицательный заряд (рI 8,4), было решено использовать катионообменную хроматографию на CM- и SP-сефарозе для связывания целевого белка и последующую градиентную элюцию для возможности его очистки. Однако данный подход не дал результатов. Во-первых, большая часть целевого белка оказалась во фракции, не связавшейся с сорбентом. Во-вторых, не удалось добиться очистки связавшегося белка, что видно из результатов ЭФ (рис. 3). Это может быть обусловлено незначительной разницей между рН раствора и рI, а также изменением изоэлектрической точки белка вследствие разворачивания молекулы в растворе мочевины [25, 26].

В связи с этим было решено проверить эффективность анионообменной хроматографии на DE-целлюлозе и тоуорепарл DEAE-650 M. В условиях солюбилизации при рН 9,0 весь белковый пул, который помимо целевого белка содержит и множество клеточных белков, должен нести отрицательный заряд. На DE-целлюлозе происходит очистка целевого продукта от хромофорных соединений, НК, липополисахаридов и части примесных белков. На колонке с DEAE-650 M происходит доочистка целевого продукта от остатков НК, значительной части примесных белков и агрегатов целевого продукта (подтверждено спектрофотометрически и ЭФ, результаты не приведены). Целевой же белок не связывается с сорбентом и остается в не связавшейся фракции. Поэтому для более эффективной очистки целевого белка было решено провести тандемную хроматографию на двух DE ионообменниках (DE 52 целлюлоза \rightarrow тоуорепарл DEAE-650 M), результаты которой представлены на рис. 4. Различное поведение анионообменных сорбентов при одинаковых условиях может быть связано с отличием химической структуры их матрицы, а следовательно, и физико-химических свойств.

Полученные данные, как и результаты катионообменной хроматографии на CM-сефарозе, можно объяснить изменением рI молекулы в растворе мочевины из-за экспонирования скрытых в нативной структуре функциональных групп. Таким образом, скорее всего, изоэлектрическая точка смещается в сторону более щелочного значения, что придает молекулам интерферона положительный заряд при рН 9,0. Это в свою очередь объясняет взаимодействие с отрицательно заряженными функциональными группами CM-сефарозы и отталкивание от групп DE-сорбентов, несущих положительный заряд. Повышение рН солюби-

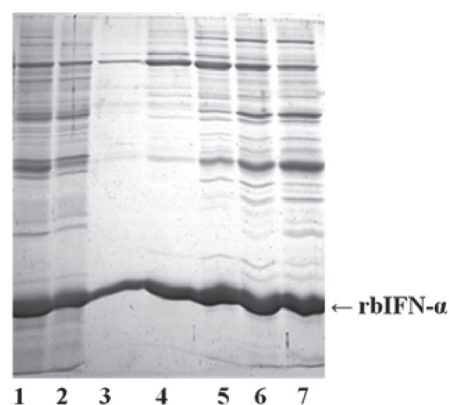


Рис. 3. Анализ очистки rIFN- α на CM-сефарозе: 1 – солюбилизат ТВ; 2 – не связавшаяся с CM-сефарозой фракция; 3–7 – фракции элюции с CM сефарозы. 15 % SDS-ЭФ в редуцирующих условиях, окраска CBB R-250
Fig. 3. Purification analysis of the rIFN- α on CM-sepharose: 1 – solubilize of IBs; 2 – CM-sepharose flow-through fraction; 3–7 – CM-sepharose elution fractions. 15 % SDS-PAGE in reducing conditions, CBB R-250 staining

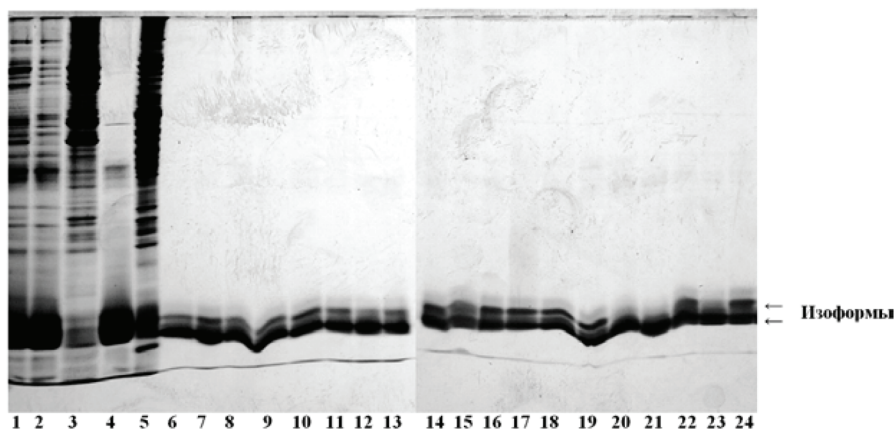


Рис. 4. Скрининг компонентного состава рефолдинг-буфера для рекомбинантного *rbIFN- α* : 1 – солюбилизиат ТВ; 2 – фракция, не связавшаяся с DE 52 целлюлозой; 3 – фракция элюции с DE 52 целлюлозы; 4 – фракция, не связавшаяся с DEAE-650 M; 5 – фракция элюции с DEAE-650 M; 6 – 10 ммоль/л NaPB; 7 – 10 ммоль/л HEPES; 8 – 10 ммоль/л MES; 9 – 10 ммоль/л MOPS; 10 – 10 ммоль/л Трис; 11 – 0,4 моль/л D-глюкоза; 12 – 0,1 моль/л D-фруктозы; 13 – 0,4 ммоль/л глицерола; 14 – 0,1 % ПЭГ-3000; 15 – 0,1 % ПЭГ-6000; 16 – 0,1 % ПВП; 17 – 0,1 % Kolliphor EL; 18 – 0,5 моль/л L-Гли; 19 – 0,5 моль/л мочевины; 20 – 0,1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистина; 21 – 0,5 ммоль/л L-Цис, 0,5 ммоль/л L-цистина; 22 – 1 ммоль/л L-Цис, 1 ммоль/л L-цистина; 23 – 1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистина; 24 – 5 ммоль/л L-Цис, 0,5 ммоль/л L-цистина. 15 % SDS-ЭФ в редуцирующих условиях, окраска серебром. Рефолдинг системы (номера соответствуют номерам дорожки на геле): 6–10 – pH 7,4, 0,4 моль/л сахарозы, 1 ммоль/л ЭДТА, 4 ммоль/л L-Цис/0,4 ммоль/л L-цистина; 11–19 – 10 ммоль/л NaPB, pH 7,4, 1 ммоль/л ЭДТА, 4 ммоль/л L-Цис, 0,4 ммоль/л L-цистина; 20–24 – 10 ммоль/л NaPB, pH 7,4, 1 ммоль/л ЭДТА, 0,4 моль/л сахарозы

Fig. 4. Screening of the refolding buffer composition for the recombinant *rbIFN- α* : 1 – solubilize of IBs; 2 – DE 52 cellulose flow-through fraction; 3 – DE 52 cellulose elution fractions; 4 – DEAE-650 M flow-through fraction; 5 – DEAE-650 M elution fractions; 6 – 10 mmol/l NaPB; 7 – 10 mmol/l HEPES; 8 – 10 mmol/l MES; 9 – 10 mmol/l MOPS; 10 – 10 mmol/l Tris; 11 – 0.4 mol/l D-glucose; 12 – 0.1 mol/l D-fructose; 13 – 0.4 mol/l glycerol; 14 – 0.1 % PEG-3000; 15 – 0.1 % PEG-6000; 16 – 0.1 % PVP; 17 – 0.1 % Kolliphor EL; 18 – 0.5 mol/l L-Gly; 19 – 0.5 mol/l urea; 20 – 0.1 mmol/l L-Cys, 0.1 mmol/l L-cystine; 21 – 0.5 mmol/l L-Cys, 0.5 mmol/l L-cystine; 22 – 1 mmol/l L-Cys, 1 mmol/l L-cystine; 23 – 1 mmol/l L-Cys, 0.1 mmol/l L-cystine; 24 – 5 mmol/l L-Cys, 0.5 mmol/l L-cystine. 15 % SDS-PAGE in reducing conditions, Ag staining. Refolding systems (number corresponds to the gel line number (N)) included: 6–10 – pH 7.4, 0.4 mol/l sukrose, 1 mmol/l EDTA, 4 mmol/l L-Cys, 0.4 mmol/l L-cystine; 11–19 – 10 mmol/l NaPB, pH 7.4, 1 mmol/l EDTA, 4 mmol/l L-Cys, 0.4 mmol/l L-cystine; 20–24 – 10 mmol/l NaPB, pH 7.4, 1 mmol/l EDTA, 0.4 mol/l sukrose

лизирующего буфера до 10,0 приводит к полному связыванию молекул *rbIFN- α* и примесных белков с матрицей DE-сорбентов, т. е. молекулы белка приобретают отрицательный заряд.

Чистота бычьего *IFN- α* в солюбилизиате отмытых ТВ составляет $53,18 \pm 9,3$ %, а после проведения ИОХ на DE-целлюлозе и toyoparl DEAE-650 M – $64,08 \pm 13,64$ и $80,7 \pm 8,6$ % соответственно. Данные об увеличении степени очистки приведены на рис. 4. Достигнутой чистоты целевого продукта достаточно для подбора условий его ренатурации [18].

На заключительном этапе проводили скрининг условий рефолдинга рекомбинантного *rbIFN- α* методом разведения. Для этого был использован образец после тандемной очистки с концентрацией белка 1,1 мг/мл. Лучшей системой рефолдинга являлась система с наименьшей мутностью (степенью агрегации), в которой белок присутствовал в мономерной форме и обладал противовирусной активностью.

Как уже отмечалось, каждый рекомбинантный белок, будучи накоплен в неактивном виде, требует определенных условий для рефолдинга [27]. Нами был выбран рефолдинг методом разведения в силу ряда его преимуществ по сравнению с другими методами. Во-первых, можно объективно установить оптимальные параметры рефолдинг буфера, во-вторых, это самый быстрый и простой в технологическом плане подход [28].

Разведение при рефолдинге проводили в 10 раз с конечной концентрацией белка 110 мкг/мл. Нами исследовано 19 ренатурирующих систем. На рис. 4 показаны результаты ЭФ-изучения влияния типа буферного агента, стабилизатора и соотношения элементов редокс-системы на выход *rbIFN- α* в гомогенном состоянии.

Исходя из результатов электрофореза, тип буфера и исследованные соединения, такие как полиолы (глицерол, глюкоза, фруктоза), полимеры (ПЭГ, ПВП), Kolliphor EL и Гли в одинаковой степени проявляют антиагрегационное действие – во всех системах целевой белок присутствует в мономерной форме. Однако ренатурация интерферона проходит с образованием нескольких изоформ, видимых на геле. Образование двойных бэндов на геле определяется только соотношением окислитель-восстановительной пары цистеин/цистин. В мономерной форме белок присутствует в трех системах рефолдинга: № 20 – 0,1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистин; № 21 – 0,5 ммоль/л L-Цис, 0,5 ммоль/л L-цистин и № 23 – 1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистин, т. е. с низкой концентрацией окисленного партнера пары.

Для дальнейшего изучения влияния конечной концентрации белка и мочевины на процесс ренатурации использована система № 23 с 10 ммоль/л NaPB, pH 7,4, 0,4 моль/л сахарозой, 1 ммоль/л ЭДТА, 1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистина. Исходный образец разводили в 2, 3, 5 и 10 раз. Конечная концентрация белка составила 550; 367; 220 и 110 мкг/мл, мочевины – 2; 2,67; 1,6 и 0,8 моль/л. Сильное помутнение раствора и образование крупных агрегатов с дальнейшим выпадением в осадок наблюдалось в первых трех случаях. При разведении в 10 раз образец слегка мутнел. Хлопьеобразование (конечная стадия агрегации) начиналась и при разведении в 15 и 20 раз, что указывало на влияние концентрации мочевины на процесс ренатурации (антиагрегационный эффект при 0,8–1 моль/л). Это подтверждено с помощью флуоресцентной спектроскопии с зондом ANS (рис. 5). Суть метода основана на том, что при интеркаляции данного зонда в гидрофобные области молекулы белка происходит изменение флуоресцентных свойств ANS. Это значит, что при разворачивании молекулы белка под действием хаотропных агентов, таких как мочевина, число гидрофобных зон уменьшается, а следовательно, снижается интенсивность флуоресценции. Показано, что при добавлении мочевины в диапазоне концентраций от 0,5 до 1 моль/л к нативному белку не приводит к существенным изменениям в структуре, в то время как при концентрации мочевины свыше 1 моль/л происходит разворачивание молекулы. Наибольшая потеря конформации наблюдается при 8 моль/л мочевины (рис. 5). Причем разворачивание молекулы происходит постепенно при промежуточных концентрациях мочевины (2–5 моль/л), в то время как в растворе 6–8 моль/л мочевины молекула белка теряет третичную структуру практически полностью.

Применение Kolliphor EL при масштабировании процесса рефолдинга оказало положительный эффект, который проявил антиагрегационный эффект по сравнению с буфером без данного соединения. В итоге скрининга была выбрана система, содержащая 10 ммоль/л NaPB, pH 7,4, 0,4 моль/л сахарозу, 1 ммоль/л ЭДТА, 1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистина с добавлением 0,05 % Kolliphor EL и разведением в 10 раз при 10 °С. Выход рефолдинга составил $20,44 \pm 1,1$ % с активностью интерферона $(5 \pm 3,6) \cdot 10^6$ МЕ/мг. Однако с процессом масштабирования усилился и процесс агрегации (о чем можно судить по увеличению степени помутнения и выпадения белкового осадка, чего не наблюдалось на небольших, до 5 мл, объемах). В связи с этим было решено проверить увеличение степени разведения до 20 раз с целью предупреждения инициации образования агрегатов со снижением концентрации белка. Однако помутнение раствора и образование осадка остались без изменения, а выход целевого белка уменьшился до $8,56 \pm 2,9$ %, активность составила $2,25 \cdot 10^7$ МЕ/мг. Это еще раз подтверждает вывод о том, что в процессе рефолдинга значительную роль играет конечная остаточная концентрация мочевины, которая в концентрации 0,8–1 моль/л оказывает антиагрегационный эффект.

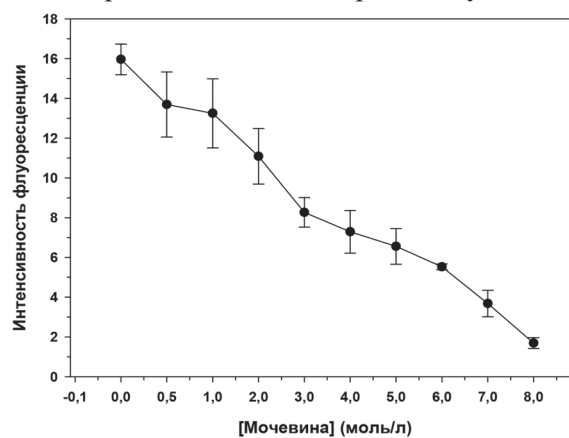


Рис. 5. Зависимость интенсивности флуоресценции rIFN-α от концентрации мочевины

Fig. 5. Dependence of the fluorescence intensity on urea concentration

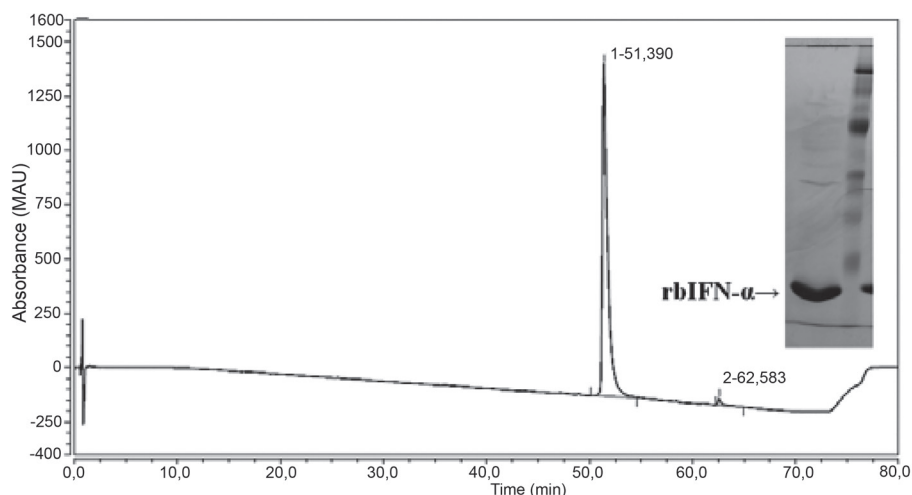


Рис. 6. Анализ чистоты конечного препарата ренатурированного rbIFN- α методом RP-HPLC на колонке Диасфер-110-С4. Во врезке представлен образец, использованный для анализа (окрашивание серебром)

Fig. 6. Purity analysis of the renatured rbIFN- α sample at the terminal stage with the help of RP-HPLC method on Diacpher-110-C4 column. Inset represents the protein sample used in analysis (Ag staining)

Проведя масштабирование выбранного метода рефолдинга и сбор целевого продукта, полученный препарат белка был подвергнут анализу для определения его гомогенности (рис. 6). Чистота конечного препарата рекомбинантного бычьего IFN- α , определенная методом RP-HPLC, составила 98,43 %.

Полученный препарат rbIFN- α обладает сопоставимой с аналогичными белками противовирусной активностью, достаточной чистотой и может быть использован для приготовления на его основе терапевтических средств.

Заключение. Данная работа посвящена определению оптимальных условий выделения, очистки и рефолдинга рекомбинантного rbIFN- α из ТВ. Установлено, что двухстадийная отмывка растворами на основе 50 ммоль/л Трис, 50 ммоль/л NaCl на первой стадии, 50 ммоль/л Трис, 50 ммоль/л NaCl и 3,5 моль/л мочевины на второй стадии позволяет избавиться от части балластных белков и НК с наименьшими потерями целевого продукта. Солюбилизация в растворе с 50 ммоль/л Трис-HCl, pH 9,0, 8 моль/л мочевиной, 20 ммоль/л ВМЕ позволяет наиболее полно экстрагировать целевой белок в мономерной форме из ТВ. Чистота бычьего IFN- α в солюбилизате отмытых ТВ составляет $53,18 \pm 9,3$ %. Тандемная хроматография на последовательно соединенных колонках с DE 52 целлюлозой и toyopearl DEAE-650 M дала возможность удалить остатки белков и НК и получить rbIFN- α с чистотой $80,7 \pm 8,6$ %, достаточной для рефолдинга. При скрининге условий ренатурации система, содержащая 10 ммоль/л NaPB, pH 7,4, 0,4 моль/л сахарозу, 1 ммоль/л ЭДТА, 1 ммоль/л L-Цис, 0,1 ммоль/л L-цистин с добавлением 0,05 % Kolliphor EL и разведением в 10 раз при 10 °C выбрана как наиболее эффективная. Выход мономерной формы rbIFN- α после рефолдинга составил $20,44 \pm 1,1$ %, активность – $(5 \pm 3,6) \cdot 10^6$ ME/мг, чистота – 98,43 %.

Благодарности. Данная работа выполнена в рамках договора № 289/57-М «Разработка технологии и организация производства субстанции и готовой формы адьюванта для конструирования вакцин крупного рогатого скота», подпрограмма «Малотоннажная биотехнология» ГП «Иновационные биотехнологии».

Acknowledgements. This research was funded by the State Program “Innovative biotechnologies” within the framework of the treaty no. 289/57-M “Development of the technology and production arrangement of the substance and adjuvant ready form for designing of cattle vaccines”, sub-program “Small capacity Biotechnology” State Enterprise “Innovative Biotechnologies”.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Capon, D. J. Two distinct families of human and bovine interferon-alpha genes are coordinately expressed and encode functional polypeptides / D. J. Capon, H. M. Shepard, D. V. Goeddel // *Mol. Cell. Biol.* – 1985. – Vol. 5, N 4. – P. 768–779. <https://doi.org/10.1128/mcb.5.4.768>
2. Stability of recombinant bovine interferon- γ antiviral activity in the absence of stabilizing additives / Q. Xu [et al.] // *Microbiol. Immunol.* – 2011. – Vol. 55, N 8. – P. 595–598. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00349.x>
3. Arora, D. Method for increasing the yield of properly folded recombinant human gamma interferon from inclusion bodies / D. Arora, N. Khanna // *J. Biotechnol.* – 1996. – Vol. 52, N 2. – P. 127–133. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(96\)01636-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(96)01636-7)
4. A slow release formulation for recombinant bovine interferon α I-1 / H. Hughes [et al.] // *Antiviral Res.* – 1994. – Vol. 23, N 1. – P. 33–44. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(94\)90031-0](https://doi.org/10.1016/0166-3542(94)90031-0)
5. Rudolph, R. *In vitro* folding of inclusion body proteins / R. Rudolph, H. Lilie // *FASEB J.* – 1996. – Vol. 10. – N 1. – P. 49–56. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.1.8566547>
6. Guise, A. D. Protein folding in vivo and renaturation of recombinant proteins from inclusion bodies / A. D. Guise, S. M. West, J. B. Chaudhuri // *Mol. Biotechnol.* – 1996. – Vol. 6, N 1. – P. 53–64. <https://doi.org/10.1007/BF02762323>
7. Refolding, isolation and characterization of crystallizable human interferon- α 8 expressed in *Saccharomyces cerevisiae* / S. Di Marco [et al.] // *J. Biotechnol.* – 1996. – Vol. 50, N 1. – P. 63–73. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(96\)01550-7](https://doi.org/10.1016/0168-1656(96)01550-7)
8. Molecular characterization of recombinant human interferon alpha-2b produced in Cuba / H. Santana [et al.] // *Biotechnol. Appl.* – 1999. – Vol. 16, N 3. – P. 154–159.
9. Refolding and purification of interferon-gamma in industry by hydrophobic interaction chromatography / X. Geng [et al.] // *J. Biotechnol.* – 2004. – Vol. 113, N 1–3. – P. 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.06.006>
10. Shin, H.-C. Protein folding, misfolding, and refolding of therapeutic proteins / H.-C. Shin // *Biotechnol. Bioprocess Eng.* – 2001. – Vol. 6, N 4. – P. 237–243. <https://doi.org/10.1007/BF02931984>
11. Lilie, H. Advances in refolding of proteins produced in *E. coli* / H. Lilie, E. Schwarz, R. Rudolph // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1998. – Vol. 9, N 5. – P. 497–501. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(98\)80035-9](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(98)80035-9)
12. Оптимизация условий очистки и рефолдинга рекомбинантного эфрина-A5 из телец включения *Escherichia coli* / А. В. Жидецкий [и др.] // *Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология.* – 2017. – № 2. – С. 58–65.
13. Rubinstein, S. Convenient assay for interferons / S. Rubinstein, P. C. Familletti, S. Pestka // *J. Virol.* – 1981. – Vol. 37, N 2. – P. 755–758.
14. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // *Nature.* – 1970. – Vol. 227, N 5259. – P. 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
15. Fairbanks, G. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fairbanks, T. L. Steck, D. F. H. Wallach // *Biochemistry.* – 1971. – Vol. 10, N 13. – P. 2606–2617. <https://doi.org/10.1021/bi00789a030>
16. A simplification of Heukeshoven and Dernick's silver staining of proteins / C. Damerval [et al.] // *Electrophoresis.* – 1987. – Vol. 8, N 3. – P. 158–159. <https://doi.org/10.1002/elps.1150080308>
17. Peterson, G. L. Determination of total protein / G. L. Peterson // *Meth. Enzymol.* – 1983. – Vol. 91. – P. 95–119. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(83\)91014-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(83)91014-5)
18. Georgiou, G. Isolating inclusion bodies from bacteria / G. Georgiou, P. Valax // *Meth. Enzymol.* – 1999. – Vol. 309. – P. 48–58. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)09005-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)09005-9)
19. Clark, E. D. B. Refolding of recombinant proteins / E. D. B. Clark // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1998. – Vol. 9, N 2. – P. 157–163. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(98\)80109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(98)80109-2)
20. Misawa, S. Refolding of therapeutic proteins produced in *Escherichia coli* as inclusion bodies / S. Misawa, I. Kumagai // *Biopolymers (Peptide Sci.)*. – 1999. – Vol. 51, N 4. – P. 297–307. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0282\(1999\)51:4<297::aid-bip5>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0282(1999)51:4<297::aid-bip5>3.0.co;2-i)
21. Vallejo, L. F. Strategies for the recovery of active proteins through refolding of bacterial inclusion body proteins / L. F. Vallejo, U. Rinas // *Microb. Cell Fact.* – 2004. – Vol. 3. – Art. 11. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-3-11>
22. Middelberg, A. P. Preparative protein refolding / A. P. Middelberg // *Trends Biotechnol.* – 2002. – Vol. 20, N 10. – P. 437–443. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)02047-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)02047-4)
23. Porterfield, J. Z. A simple and general method for determining the protein and nucleic acid content of viruses by UV absorbance / J. Z. Porterfield, A. Zlotnick // *Virology.* – 2010. – Vol. 407, N 2. – P. 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.08.015>
24. Tran-Moseman, A. D. Renaturation of *Escherichia coli*-derived recombinant human macrophage colony-stimulating factor / A. D. Tran-Moseman, N. Schauer, E. de Bernardes Clark // *Protein Expression and Purification.* – 1999. – Vol. 16, N 1. – P. 181–189. <https://doi.org/10.1006/prep.1999.1074>
25. Salaman, M. R. Isoelectric focusing of proteins in the native and denatured states. Anomalous behaviour of plasma albumin / M. R. Salaman, A. R. Williamson // *Biochem. J.* – 1971. – Vol. 122, N 1. – P. 93–99. <https://doi.org/10.1042/bj1220093>
26. Carbamylation of proteins in 2-D electrophoresis myth or reality? / J. McCarthy [et al.] // *J. Proteome Res.* – 2003. – Vol. 2, N 3. – P. 239–242. <https://doi.org/10.1021/pr025564b>
27. Armstrong, N. A new protein folding screen: application to the ligand binding domains of a glutamate and kainate receptor and to lysozyme and carbonic anhydrase / N. Armstrong, A. de Lencastre, E. Gouaux // *Protein Sci.* – 1999. – Vol. 8, N 7. – P. 1475–1483. <https://doi.org/10.1110/ps.8.7.1475>
28. Eiberle, M. K. Technical refolding of proteins: do we have freedom to operate? / M. K. Eiberle, A. Jungbauer // *Biotechnol. J.* – 2010. – Vol. 5, N 6. – P. 547–559. <https://doi.org/10.1002/biot.201000001>

References

1. Capon D. J., Shepard H. M., Goeddel D. V. Two distinct families of human and bovine interferon-alpha genes are coordinately expressed and encode functional polypeptides. *Molecular and Cellular Biology*, 1985, vol. 5, no. 4, pp. 768–779. <https://doi.org/10.1128/mcb.5.4.768>
2. Xu Q., Nomura T., Ikeda M., Ohta M., Kameyama K.-I., Konishi M., Wu D., Inumaru Sh., Murakami K. Stability of recombinant bovine interferon- γ antiviral activity in the absence of stabilizing additives. *Microbiology and Immunology*, 2011, vol. 55, no. 8, pp. 595–598. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00349.x>
3. Arora D., Khanna N. Method for increasing the yield of properly folded recombinant human gamma interferon from inclusion bodies. *Journal of Biotechnology*, 1996, vol. 52, no. 2, pp. 127–133. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(96\)01636-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(96)01636-7)
4. Hughes H. P. A., Rossow S., Campos M., Rossi-Campos A., Janssen S., Godson D. L., Daflon B., Voirol M. J., Gerber C., Babiuk L. A. A slow release formulation for recombinant bovine interferon α I-1. *Antiviral Research*, 1994, vol. 23, no. 1, pp. 33–44. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(94\)90031-0](https://doi.org/10.1016/0166-3542(94)90031-0)
5. Rudolph R., Lilie, H. *In vitro* folding of inclusion body proteins. *FASEB Journal*, 1996, vol. 10, no. 1, pp. 49–56. <https://doi.org/10.1096/fasebj.10.1.8566547>
6. Guise A. D., West S. M., Chaudhuri J. B. Protein folding in vivo and renaturation of recombinant proteins from inclusion bodies. *Molecular Biotechnology*, 1996, vol. 6, no. 1, pp. 53–64. <https://doi.org/10.1007/BF02762323>
7. Di Marco S., Fendrich G., Meyhack B., Grütter M. G. Refolding, isolation and characterization of crystallizable human interferon- α 8 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 1996, vol. 50, no. 1, pp. 63–73. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(96\)01550-7](https://doi.org/10.1016/0168-1656(96)01550-7)
8. Santana H., Martínez E., Sánchez J. C., Moya G., Sosa R., Hardy E. [et al.] Molecular characterization of recombinant human interferon alpha-2b produced in Cuba. *Biotechnologia Aplicada*, 1999, vol. 16, no. 3, pp. 154–159.
9. Geng X., Bai Q., Zhang Y., Li X., Wu D. Refolding and purification of interferon-gamma in industry by hydrophobic interaction chromatography. *Journal of Biotechnology*, 2004, vol. 113, no. 1–3, pp. 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.06.006>
10. Shin H.-C. Protein folding, misfolding, and refolding of therapeutic proteins. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2001, vol. 6, no. 4, pp. 237–243. <https://doi.org/10.1007/BF02931984>
11. Lilie H., Schwarz E., Rudolph R. Advances in refolding of proteins produced in *E. coli*. *Current Opinion in Biotechnology*, 1998, vol. 9, no. 5, pp. 497–501. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(98\)80035-9](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(98)80035-9)
12. Zhidetskii A. V., Sholukh M. V., Khanneman Yu. R., Khandrik R., Motylevich Zh. V., Khimanen Yu.-P. Optimizing purification and refolding conditions of the recombinant ephrin-A5 from inclusion bodies of *Escherichia coli*. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of Belarusian State University. Biology*. 2017, no. 2, pp. 58–65 (in Russian).
13. Rubinstein S., Familletti P. C., Pestka S. Convenient assay for interferons. *Journal of Virology*, 1981, vol. 37, no. 2, pp. 755–758.
14. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, vol. 227, no. 5259, pp. 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
15. Fairbanks G., Steck T. L., Wallach D. F. H. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochemistry*, 1971, vol. 10, pp. 2606–2617. <https://doi.org/10.1021/bi00789a030>
16. Damerval C., le Guilloux M., Blaisonneau J., de Vienne D. A simplification of Heukeshoven and Dernick's silver staining of proteins. *Electrophoresis*, 1987, vol. 8, no. 3, pp. 158–159. <https://doi.org/10.1002/elps.1150080308>
17. Peterson G. L. Determination of total protein. *Methods in Enzymology*, 1983, vol. 91, pp. 95–119. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(83\)91014-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(83)91014-5)
18. Georgiou G., Valax P. Isolating inclusion bodies from bacteria. *Methods in Enzymology*, 1999, vol. 309, pp. 48–58. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)09005-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)09005-9)
19. Clark E. D. B. Refolding of recombinant proteins. *Current Opinion in Biotechnology*, 1998, vol. 9, no. 2, pp. 157–163. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(98\)80109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(98)80109-2)
20. Misawa S., & Kumagai I. Refolding of therapeutic proteins produced in *Escherichia coli* as inclusion bodies. *Biopolymers (Peptide Science)*, 1999, vol. 51, pp. 297–307. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0282\(1999\)51:4<297::aid-bip5>3.0.co;2-i](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0282(1999)51:4<297::aid-bip5>3.0.co;2-i)
21. Vallejo L. F., Rinas U. Strategies for the recovery of active proteins through refolding of bacterial inclusion body proteins. *Microbial Cell Factories*, 2004, vol. 3, art. 11. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-3-11>
22. Middelberg A. P. Preparative protein refolding. *Trends in Biotechnology*, 2002, vol. 20, no. 10, pp. 437–443. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)02047-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)02047-4)
23. Porterfield J. Z., Zlotnick A. A simple and general method for determining the protein and nucleic acid content of viruses by UV absorbance. *Virology*, 2010, vol. 407, no. 2, pp. 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.08.015>
24. Tran-Moseman A. D., Schauer N., de Bernardez Clark E. Renaturation of *Escherichia coli*-derived recombinant human macrophage colony-stimulating factor. *Protein Expression and Purification*, 1999, vol. 16, no. 1, pp. 181–189. <https://doi.org/10.1006/prep.1999.1074>
25. Salaman M. R., Williamson A. R. Isoelectric focusing of proteins in the native and denatured states. Anomalous behaviour of plasma albumin. *Biochemical Journal*, 1971, vol. 122, no. 1, pp. 93–99. <https://doi.org/10.1042/bj1220093>
26. McCarthy J., Hopwood F., Oxley D., Laver M., Castagna A., Righetti P. G., Williams K., Herbert B. Carbamylation of proteins in 2-D electrophoresis myth or reality? *Journal of Proteome Research*, 2003, vol. 2, no. 3, pp. 239–242. <https://doi.org/10.1021/pr025564b>

27. Armstrong N., de Lencastre A., Gouaux E. A new protein folding screen: application to the ligand binding domains of a glutamate and kainate receptor and to lysozyme and carbonic anhydrase. *Protein Science*, 1999, vol. 8, no. 7, pp. 1475–1483. <https://doi.org/10.1110/ps.8.7.1475>

28. Eiberle M. K., Jungbauer A. Technical refolding of proteins: do we have freedom to operate? *Biotechnology Journal*, 2010, vol. 5, no. 6, pp. 547–559. <https://doi.org/10.1002/biot.201000001>

Информация об авторах

Жидецкий Александр Вячеславович – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Zhydzetski@gmail.com

Потапович Максим Иосифович – заведующий лабораторией. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mipatapovich@gmail.com

Кудина Ирина Владимировна – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Kuddya@gmail.com

Прокулевич Владимир Антонович – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: prokulevich@mail.ru

Шолух Михаил Васильевич – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: msholukh@mail.ru

Information about the authors

Alexander V. Zhydzetski – Junior researcher. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Zhydzetski@gmail.com

Maksim I. Patapovich – Head of the Laboratory. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mipatapovich@gmail.com

Irina V. Kudina – Junior researcher. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Kuddya@gmail.com

Uladzimir A. Prakulevich – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mipatapovich@gmail.com

Mikhail M. Sholukh – Ph. D. (Biol.), Assistant professor, Head of the Laboratory. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: msholukh@mail.ru

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

УДК 582.572.4 (476)
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-18-26>

Поступила в редакцию 07.03.2018
Received 07.03.2018

И. К. Володько, Л. В. Завадская

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**КОЛЛЕКЦИЯ НАРЦИССА ГИБРИДНОГО (*NARCISSUS* × *HYBRIDUS* HORT.)
ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАЦИОНАЛЬНОЙ
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ И МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЕЕ ОЦЕНКИ**

Аннотация. Генофонд нарцисса гибридного Центрального ботанического сада НАН Беларуси объединяет 413 сортов, представляющих 10 садовых групп. В целях отбора сортов для промышленного озеленения разработана методика, основанная на балльной системе сравнительной оценки сортов цветочно-декоративных растений, предложенной В. Н. Быловым.

Для проведения оценки сорта нарциссов были сгруппированы по садовым группам, в пределах групп – по окраске цветков, срокам цветения, высоте цветоносов и практическому использованию (групповая посадка, срезка, выгонка).

Сравнительную оценку сортов в выделенных группах и подгруппах проводили по комплексу декоративных и хозяйственно-биологических качеств.

Декоративность сорта оценивали по 100-балльной шкале, суммарно учитывая 8 наиболее информативных признаков: окраску, размер и жароустойчивость цветка, качество долей околоцветника, качество цветоноса, продуктивность и продолжительность цветения, оригинальность сорта. Каждый признак оценивали по 5-балльной шкале и умножали на коэффициент его значимости (от 2 до 3 ед.).

Хозяйственно-биологические качества сортов оценивали в пределах 50-балльной шкалы, суммарно учитывая 7 показателей: зимостойкость, повреждение весенними заморозками, состояние растений, устойчивость к болезням, устойчивость к вредителям, устойчивость к вирусной инфекции, репродуктивную способность. Признаки оценивали по 5-балльной шкале и в зависимости от их значимости умножали на повышающий коэффициент (от 1 до 2).

По результатам комплексной оценки декоративных и хозяйственно-биологических качеств сорта, оцененные 130 баллами и более, считали перспективными для промышленного озеленения.

Ключевые слова: нарциссы, коллекция, сорт, оценка, декоративные качества, хозяйственно-биологические признаки

Для цитирования: Володько, И. К. Коллекция нарцисса гибридного (*Narcissus* × *Hybridus* Hort.) Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси и методические аспекты ее оценки / И. К. Володько, Л. В. Завадская // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 18–26. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-18-26>

I. K. Volodko, L. V. Zavadskaya

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

**COLLECTION OF THE DAFFODILS (*NARCISSUS* × *HYBRIDUS* HORT.)
OF THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF BELARUS AND METHODOLOGICAL ASPECTS OF THE EVALUATION OF ITS CULTIVARS**

Abstract. The collection of the daffodils of Central Botanical Garden of the NAS of Belarus unites 413 varieties representing 10 garden groups. In order to select daffodils for industrial gardening, a method for comparative assessment of cultivars has been developed, which is presented in this article.

The system is based on the evaluation of cultivars of flower-ornamental plants. Cultivars of daffodils are evaluated in stages. In the period of mass flowering, a 5-points scale is used to assess the decorativeness of cultivars and their adaptability to local conditions. For further study, prospective varieties are distinguished, estimated at no lower than 4 points. They are grouped by garden groups, by color and size of flowers, flowering time, height of peduncles and practical use (group planting, cutting, forcing). In the selected groups and subgroups, a comparative assessment of promising varieties is made by of decorative and economic-biological qualities.

The decorativeness of the cultivars is proposed to be assessed on a 100-point scale in total by 8 features: color, flower size, heat resistance of the flower, the quality of the perianth stems, the quality of the peduncle, the duration of flowering,

abundance of flowering, originality. Each attribute is evaluated on a 5-point scale and multiplied by the coefficient of its significance, respectively, the maximum score of the attributes ranges from 10 to 15 points.

The assessment of the economic and biological qualities of cultivars is carried out in total within a 50-point scale in 7 indicators: winter hardiness, spring frost damage, resistance to disease, resistance to pests, resistance to viral infection, reproductive capacity, plant condition. Coefficient of significance of all signs 1–2.

Assessment of cultivars of daffodils in total for decorative and economic-biological characteristics is a key moment in the formation of the assortment of daffodils for industrial use. It allows selection of the most decorative, stable and well-breeding varieties in local conditions, estimated at not less than 130 points.

Keywords: daffodils, collection, cultivars, evaluation, decorative qualities, ecological-biological characteristics

For citation: Volodko I. K., Zavadskaya L. V. Collection of the daffodils (*Narcissus* × *Hybridus* Hort.) of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus and methodological aspects of the evaluation of its cultivars. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 18–26 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-18-26>

Введение. В озеленительных посадках трудно обойтись без цветущих весной луковичных культур. Особенно привлекает внимание красота и неприхотливость нарциссов – многолетних луковичных растений семейства амариллисовые (Amarillidaceae). Однако в зеленом строительстве республики нарциссы встречаются неоправданно редко. В то же время за рубежом их широко используют в ландшафтных посадках, высаживают по берегам искусственных водоемов, ручьев и декоративных бассейнов, на каменистых горках, клумбах и рабатках, а в местах, где грунтовое выращивание нарциссов невозможно, используют контейнеры.

Центральный ботанический сад (ЦБС) НАН Беларуси занимается интродукцией нарциссов с 1958 г. На протяжении многих лет коллекцию формировали с привлечением сортов, отражающих морфологическое разнообразие рода. К настоящему времени собрана представительная коллекция нарцисса гибридного (*Narcissus* × *Hybridus* Hort.) – 413 сортов английского, голландского, ирландского, американского, австралийского и новозеландского происхождения. В ней, согласно международной классификации, представлены нарциссы 10 из 13 садовых групп: трубчатые, крупнокорончатые, мелкокорончатые, махровые, триандрусовые, цикламеновидные, жонкиллиевидные, тацеттовидные, поэтические и разрезнокорончатые [1]. Собранный генофонд может служить источником для формирования промышленного ассортимента.

Цель данного исследования – разработка методики сравнительной оценки сортов нарциссов, которая позволила бы отбирать лучшие из них для промышленного использования.

Объекты и методы исследования. Исследования проведены лабораторией интродукции и селекции орнаментальных растений ЦБС НАН Беларуси в 2000–2017 гг. Объектом изучения служили сорта нарциссов коллекционного фонда Сада.

Нарциссы выращивали на солнечном участке со среднепродуктивными почвами в грядах, подготовленных в соответствии с требованиями культуры [2, 3]. Луковицы были высажены на глубину 12–15 см (три их высоты) с площадью питания 10×20 см. Для поддержания почвы в умеренно влажном состоянии ее поверхность мульчировали опилками. Во время вегетации за растениями осуществляли уход: выпалывали сорняки, рыхлили мульчирующий слой, обрывали семенные коробочки, чтобы растения не тратили питательные вещества на формирование семян, осенью с участка удаляли растительные остатки. Необходимые нарциссам элементы питания вносили с подкормками в оптимальные для культуры сроки [4].

Фенологические наблюдения за ростом и развитием нарциссов проводили по методике И. Н. Бейдемана [5]. В период массового цветения оценивали их декоративные качества [6]. Кроме визуальной оценки осуществляли учет таких биометрических параметров, как высота цветоноса, размер цветка.

При разработке методики сравнительной оценки сортов нарциссов использовали методику сравнительной сортооценки декоративных растений В. Н. Былова [7].

Результаты и их обсуждение. Поскольку все привлеченные в коллекцию нарциссы иностранного происхождения, изучение их сезонного развития в климатических условиях Беларуси имеет первостепенное значение. По успешности адаптации сортов к местным условиям можно судить о перспективах их использования в зеленом строительстве республики.

Многолетние фенологические наблюдения за ростом и развитием нарциссов показали, что погоднo-климатические условия Беларуси вполне благоприятны для выращивания большинства сортов, поскольку нарциссы успешно развиваются и достаточно обильно цветут.

Сроки наступления фенологических фаз и их продолжительность зависят от сортовых особенностей нарциссов, погодных условий вегетационного сезона, поэтому могут колебаться по годам. Большинство сортов трогаются в рост со второй половины марта (с 16 по 31). Отрастание небольшой группы сортов из разных садовых групп наблюдается в более ранние сроки, с 9 по 15 марта. Это разрезнокорончатые *Apricot Whirl*, *Replete*; крупнокорончатые *Agathon*, *Chromacolor*, *Precocious*; трубчатые *Dutch Master*, *Queen of Bicolors*, *Prizewinner*, *Point Barrow*, *Tutankhamun*; махровые *Acropolis*, *Odd's On*. Стабильно поздно, в первой декаде апреля, трогаются в рост крупнокорончатые сорта *Chiffon*, *Lovenest*, *Mrs. R. O. Backhouse*, *Passionale*, *Rhea*, *Roseanna*, *Rosy Sunrise*, *Roseate Tern*, *Toscanini*; махровые *Cheerfulness*, *Petit Four*, *Pink Paradise*, *Yellow Cheerfulness*; трубчатый *Patricia Reynolds*; разрезнокорончатый *Pink Wonder*; тацеттный *Geranium*. Позже всех, во второй декаде апреля, появляются всходы крупнокорончатого сорта *Irish Rose*.

Спустя 2–3 недели нарциссы начинают бутонизировать. При благоприятных погодных условиях развитие бутонов до стадии окрашивания проходит за 5–14 дней, спустя 3–5 дней они раскрываются. Цветение нарциссов, независимо от их групповой принадлежности, начинается со второй–третьей декады апреля (с 12 по 30) – первой–второй декады мая (со 2 по 19).

Анализ фенологической фазы «начало цветения» позволил выделить среди нарциссов ранние, средние и поздние сорта. К группе ранних нарциссов отнесены сорта, зацветающие в апреле. Это крупнокорончатые *Gercules*, *Chromacolor*, *Pink Pride*, *Pink Select*, *Pink Supreme*, *Precocious*, *Sentinel*; махровые *My Story*, *Replete*; разрезнокорончатые *Articol*, *Etincelante*, *Palmares*; мелкокорончатый *Audubon*. В первой декаде мая (с 1 по 9) зацветают нарциссы среднего срока цветения. К ним относятся сорта разрезнокорончатых нарциссов *Falconet*, *Joli Coeur*, *Pink Wonder*, *Taurus*, *Vanilla Peach*; крупнокорончатых *Chelsea Derby*, *Chiffon*, *Jewel Song*, *Lady Bird*, *Louise de Coligny*, *Satin Pink*, *Salome*; махровых *Acropolis*, *Odd's On*, *Duet*. Поздние нарциссы зацветают во второй декаде мая (с 10 по 19). Это жонкиллиевый *Bell Song*; крупнокорончатые *Irish Rose*, *Juno*, *Carbineer*, *Rhea*, *Pipe Major*, *Passionale*, *Roseanna*; поэтический *Horace*; трубчатый *Patricia Reynolds*; тацеттные *Aspasia*, *Geranium*, *Sir Winston Churchill*; махровые *Cheerfulness*, *Yellow Cheerfulness*, *White Medal*; разрезнокорончатый *Tripartite*; мелкокорончатые *Altruist*, *Arguros*, *Bithynia*, *Chinese White*, *Lancaster*, *Mystic*, *Verona*; жонкиллиевые *Sun Disc*, *Golden Chain*. В отдельные годы под влиянием внешних факторов сорта могут менять свой статус, переходя по срокам цветения из одной группы в другую.

На продолжительность цветения нарциссов влияет температурный фон, который в конце апреля – начале мая ниже, чем во второй половине мая. Поэтому раннецветущие нарциссы и нарциссы среднего срока цветения сохраняют декоративность дольше (13–30 дней), чем поздние сорта, цветение которых не превышает 10–22 дней.

Обилие цветения зависит от сортовых особенностей и не имеет четких различий в пределах садовых групп. Наибольшее число цветков (от 4,5 до 15 на гнездо) отмечается на 3–4-й год выращивания нарциссов, при этом качество цветочной продукции не снижается. Более урожайными оказались сорта крупнокорончатых нарциссов *Armada*, *Bernardino*, *Carlton*, *Champagne*, *Chromacolor*, *Ice Follies*, *Pink Pride*, *Sentinel*, *Siam*. Выращивание нарциссов без пересадки более длительный период повышает продуктивность цветения, но цветоносы растений теряют прочность.

Высота нарциссов коллекции различна. В момент роспуска цветков цветоносы вырастают до 18–35 см. К концу цветения у трубчатых, крупнокорончатых, мелкокорончатых, махровых, поэтических и разрезнокорончатых сортов цветоносы удлиняются на 6–25 см за счет вставочного роста, достигая 40–60 см. Высота растений триандрусовых, цикламеновидных, жонкиллиевых нарциссов к концу цветения колеблется в пределах 25–35 см.

Цветки нарциссов варьируются по размерам от 3 до 12 см в диаметре. Самые мелкие, не более 3 см, отмечены у сортов *Hawera* (группа триандрусовых) и *Minnow* (группа тацеттов). Цветки размером 5 см характерны для остальных сортов группы тацетты (*Aspasia*, *Geranium*, *Falconet*, *L'Innocence*). Несколько крупнее (6–7,5 см) цветки у жонкиллиевых сортов *Bell Song*, *Pipit*, *Sun*

Disc и крупнокорончатых *Chelsea China*, *Chelsea Derby*. У большой группы нарциссов, относящихся к разным садовым группам, цветки достигают размера 8–9 см в диаметре. Среди них трубчатые сорта *Erly Glory*, *Celebrity*, *Music Hall*, *Patricia Reynolds*; крупнокорончатые *Blaris*, *Carlton*, *Chiffon*, *Louise de Coligny*, *Lovenest*, *Salome*, *Satin Pink*, *Siam*, *Irish Rose*, *Jewel Song*; мелкокорончатые *Audubon*, *Birma*, *Changking*, *Edward Buxton*; махровые *Inglescombe*, *Replete*, *Rosy Cloud*, *Pink Paradise*, *Texas*; разрезнокорончатые *Articol*, *Apricot Whirl*, *Etincelante*, *Chanterelle*, *Elisabeth Bas*, *Palmares*. Самые крупные цветки (до 11,5–12 см) отмечены у сортов с махровыми цветками *My Story*, *Obdam*, *Duet*, а также у крупнокорончатых сортов *Champagne*, *Sentinel*, *Pink Giant*, *Pink Glory* и у нарциссов с расщепленной коронкой *Canasta*, *Cassata*, *Gold Collar*.

Коронки крупнокорончатых нарциссов очень разнообразны по размерам, форме и окраске. По высоте они не меньше 1/3 длины долей околоцветника или находятся почти на одном уровне с ними. По форме коронки могут быть трубковидными, как у сорта *Maiden's Blush*; бокаловидными, как у сортов *Blaris*, *Mrs. R. O. Backhouse*, *Toscanini*; чашевидными, как у *Chiffon*, *Roseanna*, или почти плоскими, как у сортов *Precocious*, *Sentinel*. Коронки бывают однотонными (белыми, желтыми, оранжевыми, розовыми), двухцветными (желто-оранжевыми, бело-розовыми) или многоцветными (бело-розовыми с желтой каймой по краю и т. д.). Наблюдения показали, что не каждый сорт реализует характерные для него декоративные качества. При недостатке тепла не проявляется в полной мере розовая и оранжевая пигментация, в результате розовые коронки многих сортов южного происхождения в наших условиях в отдельные годы окрашиваются только в светло-абрикосовый или кремовый цвет, а оранжево-красные приобретают лишь темно-желтую окраску.

В условиях центральной части Беларуси нарциссы вполне зимостойки и при наличии снежного покрова зимуют без дополнительного укрытия. Вымерзание отдельных сортов возможно в бесснежные зимы, что наблюдалось в 2002/2003 гг.

Кратковременные весенние заморозки, не редкие в местных условиях, не влияют на декоративные качества нарциссов. Замерзшие и полегшие на поверхность почвы цветоносы оттаивают, поднимаются, и нарциссы продолжают цвести. В то же время многократно повторяющееся снижение температуры до минусовых отметок у ряда сортов, как, например, у *Tricollet*, *Obdam*, оставляет цветки в полуроспуске.

В условиях Беларуси нарциссы, как и другие цветочно-декоративные растения, в той или иной степени страдают от вредителей и болезней. Наибольшую опасность представляют луковая журчалка и нарциссная муха. Из болезней чаще встречается фузариозная гниль луковиц, вызываемая грибами из рода *Fusarium*, которая приводит к гибели растений. Наблюдения показали, что наиболее восприимчивы к заболеванию сорта с желтой окраской цветка (*Golden Harvest*, *Rembrandt*, *Havelock*, *Yellow Sun*). Отмечено также поражение нарциссов болезнями вирусной природы. На листьях появляются штрихи и полосы (светлые, желтые, серебристые), на долях околоцветника – светлые пятна неправильной формы. Степень поражения нарциссов различна и колеблется от 1 % (*Alceste*, *Pink Glory*) до 88 % (*Victoria Bicolor*, *Texas*, *Lord Kitchener*, *Mrs. E. H. Krelage*, *Louis d'Or*), лишь некоторые сорта (*Armada*, *Champagne*, *Edward Buxton*, *Ice Follies*, *Monique*, *Geranium*, *La Argentina*, *Mrs. R. O. Backhouse*, *Pink Glory*, *Verger*, *Ultimus* и др.) практически здоровы.

Размножаются сорта нарциссов только вегетативно – путем деления разросшегося гнезда луковиц. Способность к воспроизводству у сортов различна, зависит от сортовых особенностей и не имеет четкой привязанности к садовым группам. При трехлетнем беспересадочном выращивании независимо от групповой принадлежности коэффициент размножения сортов может колебаться от 2,8 до 16 ед.

Таким образом, имеющиеся результаты многолетних фенологических наблюдений, а также данные, характеризующие рост и развитие нарциссов в условиях Беларуси, позволили приступить к разработке методики сравнительной оценки сортов с целью отбора лучших для промышленного ассортимента республики. За основу была взята базовая методика балльной системы оценки цветочно-декоративных растений В. Н. Былова, которая позволяла сравнить наиболее информативные декоративные и хозяйственно-биологические качества, характеризующие состояние растений в целом.

Поскольку сорта нарциссов морфологически весьма разнообразны, их необходимо было распределить по садовым группам (трубчатые, крупнокорончатые, мелкокорончатые, махровые, триандрусовые, цикламеновидные, жонкиллиевидные, тацеттовидные, поэтические, разрезнокорончатые). В пределах групп были выделены следующие подгруппы:

- по окраске цветка (белые, желтые, двухцветные и т. д.);
- по размерам цветка (мелкие, средние, крупные);
- по срокам цветения (ранние, средние, поздние);
- по высоте цветоноса (высокорослые, среднерослые, бордюрные);
- по практическому использованию (групповая посадка, срезка, выгонка).

Следующим шагом сортоизучения нарциссов являлась дифференцированная оценка сортов по важнейшим декоративным и хозяйственно-биологическим признакам.

По степени декоративности сорта нарциссов заметно различаются даже в пределах одной садовой группы. Поэтому декоративность сорта предлагалось оценивать по 100-балльной шкале по 8 признакам суммарно: окраске, размеру, жароустойчивости цветка, качеству долей околоцветника, качеству цветоноса, продолжительности цветения, обилию цветения, оригинальности растений. Каждый признак оценивали по 5-балльной шкале и умножали на коэффициент его значимости. Соответственно, максимальная оценка признаков колебалась от 10 до 15 баллов.

Окраска цветка. Наиболее высокий балл получили сорта с яркой чистой окраской цветка, устойчивой к выгоранию. Коэффициент значимости признака 2.

<i>Окраска долей околоцветника и коронки</i>	<i>Оценка, балл</i>
Ординарная	1
Тусклая	2
В процессе цветения блекнет	3
Достаточно яркая, в процессе цветения долго не выгорает	4
В процессе цветения сохраняется	5

Размер цветка. Вкусы людей постоянно меняются, однако при равных остальных достоинствах нарциссы с крупными цветками ценят более высоко. На основании изученной нами амплитуды изменчивости диаметра цветков у нарциссов шкала их оценки выглядит следующим образом:

<i>Диаметр цветка, см</i>	<i>Оценка, балл</i>
Трубчатые, крупнокорончатые, махровые, мелкокорончатые, поэтические, разрезнокорончатые сорта	
7	1
7,5–8,5	2
9–10	3
10,5–11,5	4
12 и более	5
Триандрусовые, жонкиллиевые, цикламеновидные, тацеттовидные и многоцветковые махровые сорта	
3–4	1
4,5–5	2
5,5–6	3
6,5–7	4
7,5–8	5

Коэффициент значимости признака 2.

Жароустойчивость цветка. В дни с высокой солнечной инсоляцией края коронок нарциссов могут подгорать, декоративность цветка при этом снижается. Коэффициент значимости признака 2.

<i>Жароустойчивость цветка</i>	<i>Оценка, балл</i>
Край коронки цветка подгорает и закручивается	1
Край коронки цветка подгорает, но не закручивается	2
Край коронки цветка подгорает незначительно	3
Край коронки цвета практически не повреждается	4
Край коронки цветка не повреждается	5

Качество долей околоцветника. Оценивается текстура долей околоцветника. Коэффициент значимости признака 3.

<i>Текстура долей околоцветника</i>	<i>Оценка, балл</i>
Доли околоцветника тонкие, при неблагоприятных погодных условиях повисают	1
Доли околоцветника тонкие, при неблагоприятных погодных условиях намокают и теряют форму	2
Доли околоцветника креповые, не упругие	3
Доли околоцветника креповые, но достаточно упругие	4
Доли околоцветника плотные, упругие, под дождем и ветром форма цветка сохраняется	5

Качество цветоноса. Оценивается его прочность и способность удерживать цветок. Коэффициент значимости признака 3.

<i>Качество цветоноса</i>	<i>Оценка, балл</i>
Цветонос тонкий, в ветреную и дождливую погоду полегает	1
Цветонос средней толщины, ломается под тяжестью цветка	2
Цветонос средней толщины, полегает под тяжестью цветка	3
Цветонос прочный, редко страдает от неблагоприятных погодных условий	4
Цветонос прочный, прямостоячий	5

Продолжительность цветения. Принимая во внимание наибольший период цветения нарциссов, предлагается следующая его оценка:

<i>Период цветения, дни</i>	<i>Оценка, балл</i>
7–9	1
10–12	2
13–15	3
16–17	4
18 и более	5

Коэффициент значимости признака 3.

Обилие цветения. Учет продуктивности цветения нарциссов проводится путем подсчета цветоносов в 10 гнездах на третий год выращивания и определяется среднее их число на одно гнездо. Коэффициент значимости признака 3.

<i>К-во цветоносов</i>	<i>Оценка, балл</i>
1–1,9	1
2–2,9	2
3–3,9	3
4–4,9	4
5 и более	5

Оригинальность сорта. Оцениваются признаки, по которым сорт легко отличим от других сортов этой же группы (необычная форма коронок, ее окраска, степень рассечения, гофрированность, махровость и т. д.). Коэффициент значимости признака 2.

<i>Оригинальность сорта</i>	<i>Оценка, балл</i>
Сорт ничем не отличается от других сортов этой же группы	1
Сорт отличается от других сортов этой же группы более яркой коронкой	2
Сорт отличается от других сортов этой же группы более яркими долями околоцветника и более интенсивно окрашенной коронкой	3
Сорт выделяется среди сортов группы необычной окраской коронки и степенью перекрытия долей околоцветника	4
Сорт выделяется среди сортов группы или необычной окраской коронки, или степенью ее махровости, или степенью ее рассечения и т. д.	5

Оценка сортов по декоративным качествам недостаточна для определения перспективности их использования в озеленении. Нередко высокодекоративные сорта недостаточно устойчивы в культуре, или отличаются низкой репродуктивной способностью. Поэтому оценка хозяйственно-биологических качеств нарциссов имеет решающее значение при отборе сортов для промышленного ассортимента. Она проводится суммарно в пределах 50-балльной шкалы по 7 показателям: зимостойкости, повреждению весенними заморозками, состоянию растений в посадках, устойчивости к болезням, устойчивости к вредителям, устойчивости к вирусной инфекции, репродуктивной способности.

Зимостойкость. Важный показатель, определяющий возможность промышленного использования нарциссов. Оценивается визуально в период весеннего отрастания. Коэффициент значимости признака 1.

<i>Зимостойкость нарциссов</i>	<i>Оценка, балл</i>
Выпало более 50 % растений	1
Гибель растений составляет 50 %	2
Гибель растений составляет 30 %	3
Гибель растений доходит до 10 %	4
Посадки без выпадов	5

Степень повреждения растений весенними заморозками. Определяется спустя несколько дней после того, как они минуют. Коэффициент значимости признака 1.

<i>Повреждение растений сорта заморозками</i>	<i>Оценка, балл</i>
Все растения сорта подмерзли	1
Число поврежденных растений сорта колеблется от 51 до 75 %	2
Число поврежденных растений сорта колеблется от 26 до 50 %	3
Частично повреждены до 25 % растений сорта	4
Растения без видимых повреждений	5

Поражение бактериальными или грибными болезнями. Оценивается в полевых условиях или в период хранения посадочного материала. Коэффициент значимости признака 1.

<i>Бактериальные или грибные болезни</i>	<i>Оценка, балл</i>
Поражено более 50 % растений сорта	1
Поражением охвачено до 50 % растений сорта	2
Численность пораженных растений сорта достигает 30 %	3
Поражено до 10 % растений сорта	4
Заболевания отсутствуют	5

Поражение вирусной инфекцией. Оценивается визуально по внешнему виду растений в период вегетации. При необходимости подтверждения наличия вирусной инфекции проводится тестирование в лабораторных условиях с использованием существующих методик диагностики. Коэффициент значимости признака 2.

<i>Вирусная інфекцыя</i>	<i>Оцэнка, балл</i>
Более 50 % растений сорта имеют симптомы болезни	1
Признаки вирусной инфекции отмечены у 50 % растений сорта	2
Признаки вирусной инфекции отмечены у 30 % растений сорта	3
Инфицировано около 10 % растений сорта	4
Признаки заболевания отсутствуют	5

Поражение вредителями. Основными вредителями нарциссов в условиях Беларуси являются луковая журчалка и нарциссная муха. Личинки проникают внутрь луковиц и питаются сочными чешуями, приводя растения к гибели. Потери от вредителей учитывают в период хранения посадочного материала. Коэффициент значимости признака 2.

<i>Заселенность вредителями</i>	<i>Оцэнка, балл</i>
Более 50 % луковиц сорта заселены вредителями	1
Присутствие вредителей отмечено у менее чем 50 % луковиц сорта	2
Присутствие вредителей отмечено у 30 % луковиц сорта	3
Заселено вредителями около 10 % луковиц сорта	4
Поражения вредителями отсутствуют	5

Репродуктивная способность. Характеризует способность сорта к воспроизводству. Оценивается по числу выкопанных луковиц к высаженным на третий год посадки. Коэффициент значимости признака 2.

<i>Коэффициент размножения</i>	<i>Оцэнка, балл</i>
Трубчатые, крупнокорончатые, разрезнокорончатые, тацеттые, махровые нарциссы	
2–2,9	1
3–3,9	2
4–4,9	3
5–5,9	4
6 и выше	5
Мелкокорончатые, триандрусовые, цикламеновидные, жонкиллиевидные нарциссы	
2–2,9	1
3–4,9	2
5–6,9	3
7–8,9	4
10 и выше	5

Состояние растений в посадках. Показатель учитывает биологическое состояние сорта, отражающее приспособленность его к местным условиям. Оценивается дружность цветения нарциссов, выравненность их по высоте, густота стояния растений (отсутствие или наличие выпадов). Коэффициент значимости признака 1.

<i>Состояние растений в посадках</i>	<i>Оцэнка, балл</i>
Посадки с большими выпадами, не выравненные, цветение недружное	1
Посадки с небольшими выпадами, не выравненные, цветение недружное	2
Посадки выравненные, встречаются единичные выпады, цветение дружное	3
Посадки без выпадов, некоторые экземпляры выше других, цветение дружное	4
Посадки без выпадов, выравненные, цветение дружное	5

Заключительным этапом в сравнительной сортооценке нарциссов является комплексная оценка сортов по совокупности декоративных и хозяйственно-биологических признаков по 150-балльной шкале. Именно эта конечная оценка позволяет отобрать лучшие сорта для промышленной культуры Беларуси. Такая оценка должна проводиться в течение 3 лет. Итоговые

данные за 3 года усредняют, получая среднюю оценку сорта. Сорта, оцененные по совокупности декоративных и хозяйственно-биологических признаков не менее 130 баллами, считаются перспективными для промышленного озеленения. Нарциссы со средней суммой баллов от 110 до 130 относятся к условно перспективным сортам и рекомендуются для любительского цветоводства. Сорта, суммарная оценка которых ниже 110 баллов, неперспективны, но отдельные из них, обладающие теми или иными полезными свойствами, могут использоваться в селекционном процессе, поэтому их желательно сохранить в коллекции.

Заключение. Предложенная методика сравнительной оценки сортов нарциссов базируется на количественном и качественном учете важных декоративных, хозяйственно-биологических признаков, а также биометрических параметров растений, что позволяет более объективно отбирать сорта для озеленения населенных пунктов Беларуси.

Список использованных источников

1. Чопик, В. И. (*Narcissus L.*) Нарцисс / И. И. Чопик // Декоративные травянистые растения для открытого грунта СССР: Класс однодольных : справ. пособие : в 2 т. / отв. ред. Н. А. Аврорин. – Л., 1977. – Т. 1. – С. 106–111.
2. Агеец, В. Ю. Почвы Центрального ботанического сада / В. Ю. Агеец, Г. В. Слободницкая, А. Н. Червань. – Минск : ИВС Минфина, 2013. – 83 с.
3. Ипполитова, Н. Я. Основы агротехники / Н. Я. Ипполитова // Нарциссы / Н. Я. Ипполитова. – М., 2006. – С. 72–73.
4. Мантрова, Е. З. Подкормка нарциссов / Е. З. Мантрова // Особенности питания и удобрение декоративных культур / Е. З. Мантрова. – М., 1973. – С. 61–68.
5. Бейдеман, И. Н. Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ / И. Н. Бейдеман. – Новосибирск : Наука, 1974. – 156 с.
6. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур / Гос. комис. по сортоиспытанию с.-х. культур при М-ве сельского хозяйства СССР. – М. : Колос, 1968. – Вып. 6 : Декоративные культуры. – 223 с.
7. Былов, В. Н. Основы сравнительной сортооценки декоративных растений / В. Н. Былов // Интродукция и селекция цветочно-декоративных растений : сб. ст. / ред. Н. В. Цицин. – М., 1978. – С. 7–32.

References

1. Chopik V. I. (*Narcissus L.*) Nartsiss. *Ornamental herbaceous plants for open ground of the USSR: Class of monocots: a reference guide. Vol. 1.* Leningrad, Nauka Publ., 1977, pp. 106–111 (in Russian).
2. Ageets V. Yu., Slobodnitskaya G. V., Chervan' A. N. *Soils of the Central Botanical Garden.* Minsk, IVS Minfina Publ., 2013. 83 p. (in Russian).
3. Ippolitova N. Ya. *Daffodils.* Moscow, Kladez'-Buks Publ., 2006. 91 p. (in Russian).
4. Mantrova E. Z. *Features of nutrition and fertilizer ornamental crops.* Moscow, Moscow University Press, 1973. 239 p. (in Russian).
5. Beideman I. N. *Methods of studying the phenology of plants and plant communities.* Novosibirsk, Nauka Publ., 1974. 156 p. (in Russian).
6. *Methods of state variety testing of agricultural crops. Iss. 6, Decorative cultures.* Moscow, Kolos Publ., 1968. 223 p. (in Russian).
7. Bylov V. N. Basics of comparative variety estimation of ornamental plants. *Introduktsiya i selektsiya tsvetochno-dekorativnykh rastenii: sbornik statei* [Introduction and selection of flower and ornamental plants: a collection of articles]. Moscow, 1978, pp. 7–32 (in Russian).

Информация об авторах

Володько Иван Казимирович – канд. биол. наук, зам. директора. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220022, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: i.volodko@cbg.org.by

Завадская Людмила Викторовна – вед. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220022, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mila.zavadskaya.47@mail.ru

Information about the authors

Ivan K. Volodko – Ph. D. (Biol.), Deputy Director. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220022, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: i.volodko@cbg.org.by

Ludmila V. Zavadskaya – Leading researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220022, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mila.zavadskaya.47@mail.ru

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

УДК 582.477.6:635.92:581.165.712:581.14
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-27-32>

Поступила в редакцию 19.09.2018
Received 19.09.2018

А. Ф. Келько, В. И. Торчик, Г. А. Холопук

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ И РОСТА СТЕБЛЕВЫХ ЧЕРЕНКОВ ДЕКОРАТИВНЫХ ФОРМ РОДА *JUNIPERUS L.*, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ЗЕЛЕННОГО СТРОИТЕЛЬСТВА БЕЛАРУСИ

Аннотация. Современные процессы урбанизации приводят к необходимости внедрения новых подходов к городскому озеленению, что в свою очередь требует обновления и расширения используемого ассортимента декоративных растений, характеризующихся компактностью и высокой устойчивостью к факторам среды. Важная роль при этом отводится интродукции растений, которая позволяет на первом этапе оценить перспективность новых культиваров и сделать выводы о целесообразности их дальнейшего использования в озеленении.

В статье приводятся результаты первичных интродукционных испытаний 10 декоративных форм 4 видов рода *Juniperus L.*, проведенных в 2008–2018 гг. Установлено, что исследованные культивары характеризуются устойчивым ритмом роста побегов, который начинается в конце апреля и завершается в первой половине сентября, что обеспечивает успешность их зимовки в открытом грунте. Оценка регенерационной способности стеблевых черенков позволила выявить среди объектов трудноукореняемые (*J. horizontalis* ‘Emerald Spreader’ и ‘Monber’, *J. sabina* ‘Tam No Blight’ и *J. chinensis* ‘Gold Coast’), среднеукореняемые (*J. horizontalis* ‘Prince of Wales’, ‘Limeglow’ и ‘Glacier’, *J. conferta* ‘Shlager’) и легкоукореняемые (*J. horizontalis* ‘Winter Blue’ и ‘Yukon Belle’) формы. Удовлетворительная способность стеблевых черенков к корнеобразованию позволяет организовать производство посадочного материала на территории республики.

Ключевые слова: хвойные растения, декоративные формы, культивары, можжевельник, *Juniperus*, черенкование, рост побегов

Для цитирования: Келько, А. Ф. Особенности регенерации и роста стеблевых черенков декоративных форм рода *Juniperus L.*, перспективных для зеленого строительства Беларуси / А. Ф. Келько, В. И. Торчик, Г. А. Холопук // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 27–32. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-27-32>

H. F. Kelko, U. I. Torchik, G. A. Kholopuk

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

FEATURES OF REGENERATION AND GROWTH OF STEM CUTTINGS OF DECORATIVE FORMS OF THE GENUS *JUNIPERUS L.*, PROMISING FOR GREEN CONSTRUCTION IN BELARUS

Abstract. Modern urbanization processes lead to the need to introduce new approaches to urban gardening in the practice of green building, which in turn requires the renewal and expansion of the range of ornamental plants that are used, characterized by their compactness and high resistance to environmental factors. An important role in this is given to plant introduction, designed at the first stage to assess the prospects of introductions and draw conclusions about the advisability of their further use in gardening. This article presents the results of primary introductory tests of 10 cultivars of 4 species of the genus *Juniperus L.*, conducted in 2008–2018. It is established that the cultivars studied are characterized by a stable rhythm of shoot growth, which begins in late April and ends in the first half of September, which ensures the success of their wintering in the open ground. The evaluation of the regenerative capacity of stem cuttings made it possible to identify among the objects as hard-to-root forms (*J. horizontalis* ‘Emerald Spreader’ and ‘Monber’, *J. sabina* ‘Tam No Blight’ and *J. chinensis* ‘Gold Coast’) and medium- (*J. horizontalis* ‘Prince of Wales’, ‘Limeglow’ and ‘Glacier’, *J. conferta* ‘Shlager’) and easily rooted (*J. horizontalis* ‘Winter Blue’ and ‘Yukon Belle’). Satisfactory ability of stem cuttings to root formation allows to organize the production of planting material on the territory of the republic.

Keywords: conifers, ornamental forms, cultivars, juniper, *Juniperus*, cutting, shoot growth

For citation: Kelko H. F., Torchik U. I., Kholopuk G. A. Features of regeneration and growth of stem cuttings of decorative forms of the genus *Juniperus L.*, promising for green construction in Belarus. *Vesti Natsyynal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 27–32 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-27-32>

Введение. В условиях возрастающей урбанизации и сокращения в пределах городов территорий, пригодных для создания скверов, парков и других крупных объектов озеленения, призванных нивелировать неблагоприятные для человека техногенные факторы, важное экологическое и социальное значение приобретает внедрение в практику отечественного зеленого строительства новых подходов к городскому озеленению. В связи с этим возникает необходимость обновления и расширения используемого в Беларуси ассортимента декоративных растений на основе достижений мировой и отечественной селекции. В решении данного вопроса большое значение имеет интродукция растений, которая на первом этапе интродукционных испытаний включает изучение адаптационных возможностей привлеченных видов и сортов и разработку оптимальных технологий их размножения и выращивания в местных условиях [1], что позволяет оценить перспективность интродуцентов и рекомендовать их для практического использования. Особый интерес для целей зеленого строительства представляют садовые формы можжевельников, отличающиеся богатым внутривидовым разнообразием, высокой декоративностью на протяжении всего года, фитонцидной активностью и универсальностью применения при создании объектов озеленения.

В Центральном ботаническом саду НАН Беларуси создана коллекция «Декоративные садовые формы древесных растений», на базе которой проводятся интродукционные испытания новых для Беларуси декоративных форм, включая представителей рода *Juniperus* L. [2].

Цель настоящей работы – проведение первичных интродукционных испытаний, включающих оценку роста и регенерационной способности стеблевых черенков некоторых культиваров рода *Juniperus* L.

Объекты и методы исследования. Исходный материал для исследований был привлечен в 2008 г. из Дендрологического сада Исследовательского института ландшафтного и декоративного садоводства Сильва-Тарукка (Pruhonice, Чехия) в виде стеблевых черенков. Интродукционные испытания проводили в течение 2008–2018 гг. Объектами исследования являлись 10 форм 4 видов рода *Juniperus* L. (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Декоративные формы видов рода *Juniperus* L., включенные в эксперимент

T a b l e 1. Decorative forms of *Juniperus* L. species, involved in experiment

Вид	Декоративная форма
Можжевельник горизонтальный – <i>J. horizontalis</i> Moench.	‘Emerald Spreader’, ‘Glacier’, ‘Monber’ (‘Icee Blue’), ‘Limeglow’, ‘Prince of Wales’, ‘Winter Blue’, ‘Yukon Belle’
Можжевельник казацкий – <i>J. sabina</i> L.	‘Tam No Blight’
Можжевельник китайский – <i>J. chinensis</i> L.	‘Gold Coast’
Можжевельник прибрежный – <i>J. conferta</i> Parl.	‘Shlager’

Ветви для нарезки черенков, заготовленные в конце мая, транспортировали, обернув влажной тканью и упаковав в полиэтиленовые пакеты. Нарезку черенков с «пяткой» и высадку их в теплицу в смесь торфа и песка (1:1 по объему) на затененные гряды проводили на следующие сутки. Влажность воздуха в теплице в пределах 70–85 % поддерживали посредством прерывистого искусственного тумана [3]. Учет количества укорененных черенков проводили весной следующего года. На основании результатов оценивали регенерационную способность культиваров (легко-, средне- и трудноукореняемые, укореняемость черенков которых составляет 80–100, 40–79 и менее 40 % соответственно [4, 5]). Укорененные черенки высаживали в контейнеры объемом 1 л в смесь верхового торфа (pH 3,5–4,5) и листовой земли в соотношении 1:1 по объему и помещали в условия открытого грунта рядами на ровную площадку, укрытую агротканью. За саженцами осуществляли агротехнический уход, заключающийся в поливе и удалении сорной растительности.

За ростом растений, произрастающих в контейнерах, проводили регулярные наблюдения путем замера не менее 5 побегов каждой формы, промаркированных до начала роста, с интервалом 7 дней [6, 7].

В последующие годы растения пересаживали в контейнеры большего размера, а также в грунт на постоянное место. На протяжении всего периода наблюдений растения осматривали на предмет наличия повреждений, вызванных климатическими факторами.

Результаты и их обсуждение. Исследование регенерационной способности стеблевых черенков культиваров можжевельника горизонтального при данном сроке черенкования (активный рост побегов маточных растений) показало, что укореняемость их варьируется от низкой (30,3 и 33,3 % у форм ‘Emerald Spreader’ и ‘Monber’ соответственно) до высокой (85 % у формы ‘Winter Blue’ и 100 % у формы ‘Yukon Belle’) (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Укореняемость черенков декоративных форм видов рода *Juniperus* L.

Table 2. Rooting ability of stem cuttings of *Juniperus* L. species cultivars

Вид	Форма	Укореняемость, %
Можжевельник горизонтальный – <i>J. horizontalis</i> Moench.	‘Emerald Spreader’	30,3
	‘Glacier’	68,4
	‘Monber’	33,3
	‘Limeglow’	65,5
	‘Prince of Wales’	44,0
	‘Winter Blue’	85,0
	‘Yukon Belle’	100
Можжевельник казацкий – <i>J. sabina</i> L.	‘Tam No Blight’	38,5
Можжевельник китайский – <i>J. chinensis</i> L.	‘Gold Coast’	9,7
Можжевельник прибрежный – <i>J. conferta</i> Parl.	‘Shlager’	72,2

У форм ‘Prince of Wales’, ‘Limeglow’ и ‘Glacier’ укореняемость была средней и составила 44,0, 65,5 и 68,4 % соответственно. Среднеукореняемым культиваром оказался также можжевельник прибрежный ‘Shlager’ (72,2%), а можжевельники казацкий ‘Tam No Blight’ и китайский ‘Gold Coast’ – трудноукореняемыми формами (укореняемость составила 38,5 и 9,7 % соответственно).

Наблюдения за ростом саженцев, полученных из укорененных черенков интродуцируемых можжевельников, позволили установить скорость роста молодых трехлетних растений. Так, небольшим годичным приростом до 10 см отличались формы ‘Monber’, ‘Limeglow’ и ‘Winter Blue’ можжевельника горизонтального, а также можжевельники казацкий ‘Tam No Blight’, китайский ‘Gold Coast’ и прибрежный ‘Shlager’ (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Годичный прирост трехлетних саженцев декоративных форм видов рода *Juniperus* L.

Table 3. The annual increment of 3-year-old seedlings of decorative forms of *Juniperus* L. species

Вид	Форма	Среднегодовой прирост побегов, см
Можжевельник горизонтальный – <i>J. horizontalis</i> Moench.	‘Emerald Spreader’	22,2 ± 1,2
	‘Glacier’	17,9 ± 2,5
	‘Monber’	3,0 ± 0,4
	‘Limeglow’	4,8 ± 0,4
	‘Prince of Wales’	21,8 ± 0,7
	‘Winter Blue’	6,6 ± 0,6
	‘Yukon Belle’	30,4 ± 1,3
Можжевельник казацкий – <i>J. sabina</i> L.	‘Tam No Blight’	7,0 ± 1,6
Можжевельник китайский – <i>J. chinensis</i> L.	‘Gold Coast’	9,3 ± 0,5
Можжевельник прибрежный – <i>J. conferta</i> Parl.	‘Shlager’	10,7 ± 0,9

У саженцев можжевельника горизонтального ‘Emerald Spreader’, ‘Glacier’, ‘Prince of Wales’ и ‘Yukon Belle’ годичные приросты колебались в пределах от 17,9 до 30,4 см.

С возрастом после пересадки растений в открытый грунт на постоянное место скорость роста у большинства исследованных культиваров увеличивалась. Так, медленнорастущие молодые растения можжевельника горизонтального ‘Monber’ к 10-летнему возрасту перешли в группу быстрорастущих в связи с увеличением среднего годичного прироста почти в 8 раз (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Годичный прирост 10-летних саженцев декоративных форм видов рода *Juniperus* L.Table 4. The annual increment of 10-year-old seedlings of *Juniperus* L. species cultivars

Вид	Форма	Среднегодовой прирост побегов, см
Можжевельник горизонтальный – <i>J. horizontalis</i> Moench.	‘Emerald Spreader’	28,4 ± 0,7
	‘Glacier’	10,3 ± 1,0
	‘Monber’	23,5 ± 1,1
	‘Limeglow’	10,6 ± 0,3
	‘Prince of Wales’	8,6 ± 0,6
	‘Winter Blue’	8,8 ± 0,5
	‘Yukon Belle’	20,1 ± 0,9
Можжевельник казацкий – <i>J. sabina</i> L.	‘Tam No Blight’	19,0 ± 1,5

Более чем в 2 раза увеличилась интенсивность роста ‘Limeglow’ и ‘Tam No Blight’. Незначительно увеличился годичный прирост у форм ‘Emerald Spreader’ и ‘Winter Blue’. В то же время у форм ‘Glacier’, ‘Prince of Wales’ и ‘Yukon Belle’ к 10-летнему возрасту скорость роста снизилась, причем у ‘Prince of Wales’ годичный прирост уменьшился в 2,5 раза.

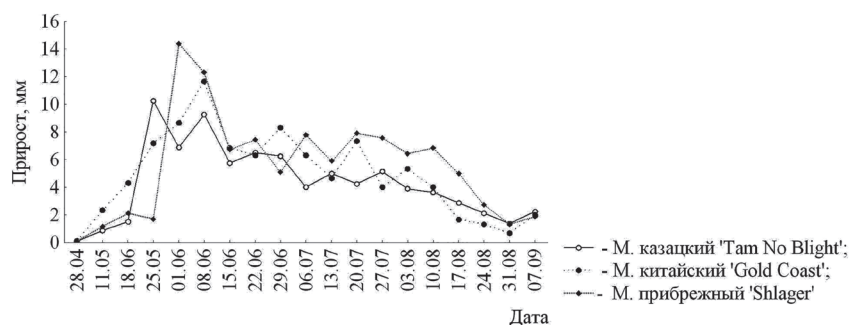
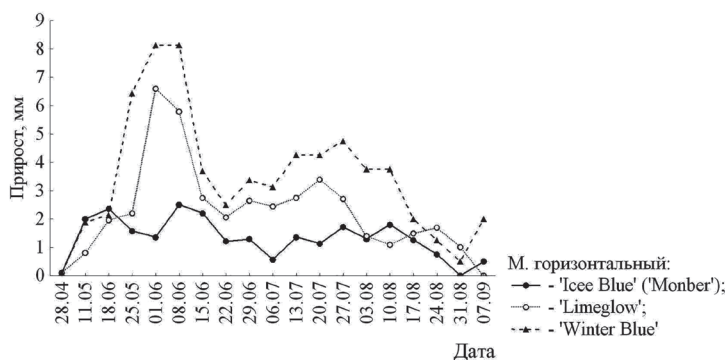
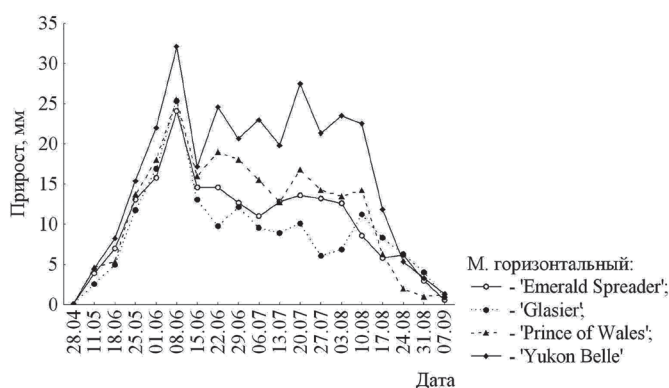
Изучение динамики роста побегов у молодых растений показало, что у декоративных форм можжевельников рост побегов начинается, как правило, в конце апреля. Интенсивность роста в первые недели быстро увеличивается и достигает максимальных значений в первой декаде июня. Так, у наиболее быстрорастущих культиваров можжевельника горизонтального ‘Emerald Spreader’, ‘Glacier’, ‘Prince of Wales’ и ‘Yukon Belle’ интенсивность роста к концу первой декады июня составляла от 2,4 до 3,2 см в неделю (см. рисунок). Затем еженедельный прирост снижался до 1,3–1,7 см. Постепенное затухание роста побегов у форм ‘Emerald Spreader’, ‘Prince of Wales’ и ‘Yukon Belle’ отмечалось до середины июля, у формы ‘Glacier’ – до конца июля, после чего наблюдалось незначительное увеличение интенсивности их роста, а затем ее постепенное снижение. К концу первой декады сентября рост побегов прекращался.

У форм можжевельника горизонтального ‘Limeglow’ и ‘Winter Blue’ с меньшим годичным приростом интенсивность роста побегов также увеличивалась до максимальных значений (0,7 и 0,8 см в неделю соответственно) к первой декаде июня, однако в первые 2 недели рост был более плавным по сравнению с таковым у быстрорастущих форм.

У молодых саженцев формы ‘Monber’, которые отличались наиболее медленной скоростью роста среди исследованных культиваров, отсутствовало четко выраженное увеличение интенсивности роста побегов. Наибольшие ее значения (0,2–0,3 см в неделю) отмечались в конце второй декады мая и в конце первой декады июня. В первой декаде июля наблюдалось затухание роста побегов (менее 1 мм в неделю), после чего интенсивность роста увеличивалась до 2 мм, а затем снова снижалась. Затухание роста у ‘Limeglow’ и ‘Winter Blue’ отмечалось во второй декаде июня, после чего интенсивность роста незначительно увеличилась к концу июля до 0,3 и 0,4 см соответственно. Затем рост побегов постепенно замедлялся и прекращался в начале сентября.

У можжевельника китайского ‘Gold Coast’ максимальная интенсивность роста (1,2 см в неделю) также пришлось на первую декаду июня, летнее затухание роста побегов (прирост в неделю составил около 0,4 см) – на середину июля. Далее интенсивность роста возрастала до 0,7 см в неделю, а затем постепенно снижалась. Рост побегов закончился к концу первой декады сентября.

Для можжевельников казацкого ‘Tam No Blight’ и прибрежного ‘Shlager’ была характерна невысокая интенсивность роста побегов (1–2 мм в неделю) в течение первых недель вегетации. Резкое увеличение скорости роста до максимальных значений отмечалось в конце второй декады мая у формы ‘Tam No Blight’ (1 см в неделю), в конце мая – начале июня – у формы ‘Shlager’ (1,4 см). Затухание роста побегов у ‘Tam No Blight’ также наблюдалось на неделю раньше, чем у ‘Shlager’, и пришлось на конец июня и начало июля соответственно. После незначительного усиления роста отмечалось его замедление и окончание к концу первой декады сентября.



Динамика роста побегов декоративных форм видов рода *Juniperus* L.

Growth dynamics of *Juniperus* L. species cultivars

Полученные данные по росту новых декоративных форм согласуются с результатами исследований динамики роста побегов других культиваров различных видов можжевельников, которые проводились ранее [8].

Заключение. Первичное интродукционное испытание 10 декоративных форм 4 видов рода *Juniperus* L. позволило установить, что начало роста побегов в местных условиях приходится на конец апреля. Максимальная интенсивность роста наблюдается в первой декаде июня. Активный рост продолжается до конца июня – конца июля в зависимости от декоративной формы. После затухания роста еженедельный прирост побегов незначительно возрастает, а затем постепенно снижается. Рост побегов заканчивается в первой половине сентября. Таким образом, растения успевают закончить вегетацию до заморозков, что обеспечивает успешность их зимовки в открытом грунте.

Скорость роста у одних культиваров к 10-летнему возрасту изменяется от медленной (до 10 см в год) до более быстрой (свыше 10 см в год), например, у растений форм 'Monber', 'Limeglow' и 'Tam No Blight', у других культиваров ('Glacier', 'Prince of Wales' и 'Yukon Belle') годичный прирост, наоборот, уменьшается.

Предварительная оценка регенерационной способности стеблевых черенков позволила выявить среди исследованных культиваров трудноукореняемые формы (укореняемость менее 40 %) – можжевельник горизонтальный ‘Emerald Spreader’ и ‘Monber’, можжевельники казацкий ‘Tam No Blight’ и китайский ‘Gold Coast’; среднеукореняемые (40–79 %) – можжевельник горизонтальный ‘Prince of Wales’, ‘Limeglow’ и ‘Glacier’, можжевельник прибрежный ‘Shlager’ и легкоукореняемые (80–100%) – можжевельник горизонтальный ‘Winter Blue’ и ‘Yukon Belle’.

Таким образом, исследованные культивары могут успешно использоваться в зеленом строительстве республики благодаря устойчивому ритму роста побегов, который завершается в первой половине сентября, обеспечивая успешность зимовки их в открытом грунте. Следует также отметить, что удовлетворительная регенерационная способность их стеблевых черенков позволяет организовать производство посадочного материала на территории республики.

Список использованных источников

1. Карпун, Ю. Н. Основы интродукции растений / Ю. Н. Карпун // *Hortus botanicus*. – 2004. – Т. 2. – С. 17–32.
2. Холопук, Г. А. Декоративные формы можжевельника и перспективы их интродукции в Беларуси / Г. А. Холопук, В. И. Торчик // *Промышленная ботаника: состояние и перспективы развития : материалы VII Междунар. науч. конф. (г. Донецк, 17–19 мая 2017 г.)* / отв. ред. С. А. Приходько. – Ростов н/Д, 2017. – С. 456–459.
3. Торчик, В. И. Ризогенез у декоративных садовых форм хвойных растений и способы его интенсификации / В. И. Торчик, А. Ф. Келько, Г. А. Холопук. – Минск : Беларус. навука, 2017. – 218 с.
4. Шкутко, Н. В. Размножение туи, можжевельника, кипарисовика и тиса стеблевыми черенками в Белоруссии: рекомендации / Н. В. Шкутко, М. В. Шуравко. – Минск : б. и., 1988. – 11 с.
5. Пономаренко, В. О. Обкорінення стеблових живців видів і культиварів роду *Juniperus* L. залежно від життєвої форми / В. О. Пономаренко // *Інтродукція рослин*. – 2003. – № 3. – С. 99–105.
6. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР / Акад. наук СССР, Совет бот. садов СССР ; отв. ред. П. И. Лапин. – М. : Гл. бот. сад АН СССР, 1975. – 27 с.
7. Молчанов, А. А. Методика изучения прироста древесных растений / А. А. Молчанов, В. В. Смирнов ; отв. ред. С. А. Никитин. – М. : Наука, 1967. – 100 с.
8. Торчик, В. И. Декоративные садовые формы хвойных растений / В. И. Торчик, Е. Д. Антонюк. – Минск : Эдит ВВ, 2007. – 152 с.

References

1. Karpun Yu. N. Basics of plant introduction. *Hortus botanicus*, 2004, vol. 2, pp. 17–32 (in Russian).
2. Kholopuk G. A., Torchik V. I. Decorative forms of juniper and the prospects for their introduction in Belarus. *Prumyshlennaya botanika: sostoyanie i perspektivy razvitiya: materialy VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (g. Donetsk, 17–19 maya 2017 g.)* [Industrial botany: state and development prospects: proceedings of the VII International scientific conference (Donetsk, May 17–19, 2017)]. Rostov-na-Donu, 2017, pp. 456–459 (in Russian).
3. Torchik V. I., Kel'ko A. F., Kholopuk G. A. *Risogenesis in ornamental garden forms of conifers and methods for its intensification*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2017. 218 p. (in Russian).
4. Shkutko N. V., Shuravko M. V. *Reproduction of cedar, juniper, cypress and yew with stem cuttings in Belarus. Recommendations*. Minsk, s. n., 1988. 11 p. (in Russian).
5. Ponomarenko V. O. Stem cutting rooting of species and cultivars of *Juniperus* L. genus in dependence of life form. *Introduktsiya roslin = Plant introduction*, 2003, no. 3, pp. 99–105 (in Ukrainian).
6. *Methodology of phenological observations in the botanical gardens of the USSR*. Moscow, Main Botanical Garden of the USSR Academy of Sciences, 1975. 27 p. (in Russian).
7. Molchanov A. A., Smirnov V. V. *Method of studying the growth of woody plants*. Moscow, Nauka Publ., 1967. 100 p. (in Russian).
8. Torchik V. I., Antonyuk Y. D. *Ornamental garden forms of coniferous plants*. Minsk, Edit VV Publ., 2007. 152 p. (in Russian).

Информация об авторах

Келько Анна Федоровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna.kelko@inbox.ru

Торчик Владимир Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dendro@tut.by

Холопук Геннадий Анатольевич – канд. с.-х. наук, ст. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gax.forestbat@gmail.com

Information about the authors

Hanna F. Kelko – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna.kelko@inbox.ru

Vladimir I. Torchik – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dendro@tut.by

Gennadiy A. Kholopuk – Ph. D. (Agric.), Senior researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gax.forestbat@gmail.com

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

УДК 635.92:582.998.2
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-33-39>

Поступила в редакцию 21.03.2018
Received 21.03.2018

С. В. Цеханович

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

МЕТОДИКА КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ СОРТОВ ХРИЗАНТЕМЫ КОРЕЙСКОЙ (*CHRYSANTHEMUM COREANUM*), ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В БЕЛАРУСИ

Аннотация. В последнее время ассортимент цветочно-декоративных растений значительно расширился за счет введения в культуру новых многолетних растений. Хризантема корейская (*Chrysanthemum coreanum*) – одна из наиболее перспективных культур для озеленения населенных пунктов Беларуси. Растения отличаются продолжительными сроками цветения, неприхотливостью при выращивании, доступными способами размножения, большим сортовым разнообразием.

В настоящей статье приводится модифицированная методика комплексной сортооценки хризантемы корейской, рекомендуемая к использованию при отборе сортов для промышленного озеленения. Сорта оценивали по 11 декоративным и биологическим показателям, отражающим жизнеспособность и декоративность растений в условиях культивирования: устойчивости окраски соцветия, продолжительности и стабильности цветения, количеству соцветий, высоте и форме растения, облиственности побегов, зимостойкости, устойчивости к болезням и вредителям, вегетативной подвижности, долголетию в культуре. Каждый показатель оценивали по 3-балльной шкале. По сумме баллов определяли перспективность сорта для использования в озеленении. Сорта, получившие 27 баллов и выше, отнесены к очень перспективным, с суммой 19–26 баллов – к перспективным, оцененные ниже 19 баллов – к малоперспективным.

На основе данной методики, апробированной на коллекционном фонде хризантемы корейской Центрального ботанического сада НАН Беларуси, отобраны перспективные сорта.

Ключевые слова: биологические и декоративные показатели, интродукция, комплексная сортооценка, озеленение, хризантема

Для цитирования: Цеханович, С. В. Методика комплексной оценки сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*), интродуцированных в Беларуси / С. В. Цеханович // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 33–39. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-33-39>

S. V. Tsekhanovich

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

THE TECHNIQUE OF INTEGRATED ASSESSMENT OF VARIETIES OF KOREAN CHRYSANTHEMUM (*CHRYSANTHEMUM COREANUM*), INTRODUCED IN BELARUS

Abstract. Recently, with the development of decorative gardening and landscape design, the extension of the assortment of floral and ornamental plants including perennial plants becomes relevant. chrysanthemum Korean – one of the most promising crops for flower decoration of the cities of Belarus, characterized by long flowering periods, unpretentiousness at cultivation, accessible ways of reproduction ways of plants, a wide variety of varieties.

In the article present a modified method of comprehensive assessment of chrysanthemum Korean (*Chrysanthemum coreanum*), recommended for use in industrial landscaping. The method is based on 11 decorative and biological qualities: stability of flower coloration, duration and stability of flowering plants, number of inflorescences, height and shape of the plant, number of leaves on the stem, winter hardiness of plants, resistance to diseases and pests, ability of plants to vegetative reproduction, preservation of decorative qualities without plant transplantation which are important for industrial cultivation of plants. Each qualities is evaluated on a 3-point scale. The sum of points determines the perspective of the variety for use in gardening. Varieties of chrysanthemum that received 27 points or more are very promising plants, 19–26 – a promising plants, below 18 points – to the unpromising plants.

The method was used on a collection of chrysanthemum Korean of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. Based on this technique, perspective plant varieties were selected for the green construction of Belarus.

Keywords: decorative and biological qualities, introduction, comprehensive assessment, planting of greenery, chrysanthemum

For citation: Tsekhanovich S. V. The technique of integrated assessment of varieties of Korean chrysanthemum (*Chrysanthemum coreanum*), introduced in Belarus. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 33–39 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-33-39>

Введение. Одной из доминирующих тенденций в развитии современного декоративного и ландшафтного дизайна является расширение ассортимента цветочно-декоративных растений за счет введения в культуру многолетних растений, различающихся по срокам цветения – от ранней весны до поздней осени.

К числу многолетних цветочных растений летне-осеннего срока цветения относится хризантема корейская (*Chrysanthemum coreanum* (H. Lév. & Vaniot) Nakai ex T. Mori). Она отличается достаточно высоким адаптационным потенциалом, богатством сортового разнообразия, продолжительным периодом цветения, неприхотливостью при выращивании, простыми способами размножения. Хризантема является одной из ведущих культур декоративного садоводства. Ее широко используют в современном цветочном оформлении многих городов Европы, Японии и Китая [1]. Хризантемы популярны еще и потому, что их можно выращивать как контейнерную культуру. В первую очередь это актуально для городов, где наблюдается недостаток площадей (особенно в центре города). К сожалению, в цветочном оформлении населенных пунктов нашей республики, несмотря на достаточно большой ассортимент интродуцированных сортов, данная группа растений пока мало используется.

Основной национальный генофонд хризантемы корейской содержится в Центральном ботаническом саду (ЦБС) НАН Беларуси. На его базе выполняются исследования по отбору новых сортов культуры для промышленного озеленения. Пополнение ассортимента хризантем в ЦБС НАН Беларуси происходит за счет интродукции новых зарубежных сортов, устойчивых к местным климатическим условиям [2]. Поэтому важными аспектами интродукционного исследования хризантемы корейской стали разработка методики комплексной оценки и отбор сортов, перспективных для озеленения.

Цель нашего исследования – разработка методики комплексной оценки сортов хризантемы корейской, которая позволяет отобрать наиболее декоративные и устойчивые сорта для зеленого строительства в климатических условиях Республики Беларусь.

Объекты и методы исследования. Коллекционный фонд хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*) ЦБС НАН Беларуси создавался несколько десятилетий. За эти годы изучено более 250 сортов зарубежной селекции, поступавших из разных климатических зон [1, 2]. Многие сорта оказались неперспективными из-за снижения их декоративности в условиях республики, очень поздних сроков цветения, неустойчивости к болезням. В настоящее время в коллекции представлено около 200 интродуцированных сортов, которые и послужили объектами изучения при разработке и апробировании методики комплексной оценки. Сорта различаются высотой и формой куста, размером и окраской соцветий, сроками и продолжительностью цветения [3].

За основу методики комплексной оценки сортов хризантемы корейской взяты методика сортооценки ведущих цветочных культур В. Н. Былова [4] и шкала оценки биологических и декоративных показателей хризантемы К. Ф. Дворяниновой [5]. Декоративные качества и биологические особенности сортов хризантемы корейской изучали и оценивали в течение всего вегетационного сезона.

Результаты и их обсуждение. Перспективность того или иного растения для озеленения оценивается с учетом его декоративных качеств и устойчивости в культуре, что обусловлено биологическими свойствами растения. Декоративность хризантемы – совокупность морфологических признаков растения: окраска цветка и ее изменение в процессе цветения (устойчивость к выгоранию), обильность цветения, форма растения и его устойчивость к полеганию. Из биологических особенностей хризантемы наиболее важными являются зимостойкость, продолжительность цветения, коэффициент размножения и устойчивость к болезням [6].

Известно, что в различных климатических зонах значимость разных показателей и их оценка будут отличаться. Так, в регионах с холодными зимами (в том числе и в Беларуси) основным фактором, ограничивающим культивирование многих многолетних растений, является холодный осенне-зимний период. Поэтому зимостойкость того или иного сорта будет определяющей при отборе сортов для озеленения. Для городских цветников немаловажен и такой показатель, как продолжительность цветения.

Предложенная нами методика комплексной оценки сортов хризантемы корейской учитывает 11 показателей декоративных и биологических свойств растений, каждый из которых оценивается по 3-балльной шкале (см. таблицу). Интегрированным показателем оценки сорта является сумма баллов. Все сорта были разделены на группы: I группа – очень перспективные сорта (27 баллов и выше); II группа – перспективные (19–26 баллов); III группа – малоперспективные для озеленения (18 баллов и ниже).

Модифицированная методика комплексной сортооценки хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*)
Modified method of comprehensive assessment of chrysanthemum Korean (*Chrysanthemum coreanum*)

Показатель	Оценка, балл		
	1	2	3
Устойчивость окраски соцветия	Выгорает полностью в начале цветения	Выгорает к середине цветения	Сохраняет окраску до конца цветения
Количество соцветий на одном побеге, шт.	До 5	6–10	11 и более
Форма (плотность) растения	Первоначально очень рыхлый куст, который сильно разваливается (все стебли лежат на земле)	Разваливаются только периферические стебли	Плотный куст, сохраняет форму весь сезон
Высота куста, см	Выше 75	56–74	Менее 55
Облиственность побега (стебля)	Листья только в верхней части, нижняя часть одревесневшая	Листья только до середины побега	Стебель полностью покрыт листьями весь сезон
Зимостойкость	Не зимует даже под укрытием	Зимнее повреждение достигает 50 %	Хорошо зимует без укрытия
Устойчивость к болезням и вредителям	Повреждается ежегодно, массово	Повреждается редко, не массово	Не повреждается, устойчив
Вегетативная подвижность	Образует очень малое количество побегов (менее 4)	Образует количество побегов от 5 до 10	Образует большое количество побегов (11 и более)
Ежегодная стабильность цветения	Цветет нерегулярно, цветение слабое	Цветет нерегулярно, но цветение обильное	Цветет обильно ежегодно
Продолжительность цветения, дней	Не более 25	26–50	Более 50
Долголетие в культуре	Декоративен в течение 1 года, не сохраняет декоративность на 2-й год	Сохраняет декоративность в течение 3–4 лет	Сохраняет декоративность без пересадки более 4 лет

Устойчивость окраски соцветия. Является важным декоративным признаком, так как под действием метеорологических факторов может меняться в худшую сторону первоначальная окраска цветков. У одних соцветия быстро выгорают на ярком солнце, у других блекнут во время дождей (чаще всего у сортов с белой окраской соцветий), что приводит к потере декоративности растений.

Во время апробации методики выделены сорта, окраска соцветий которых устойчива к неблагоприятным погодным условиям (оценены 3 баллами) – Белоснежка, Бузьковий Рай, Доктор Курц, Золота Амфора, Золотий Дукач, Лелія, Марта, Мишаль, Роксель, Танго.

Низкую оценку (1 балл) получили сорта Дебют, Дочь Розетты, Журавлинка, Клеопатра, Крымский Загар, Лето, у которых окраска соцветий выгорает и видоизменяется во время дождя.

Количество соцветий на одном побеге. Является важным признаком, определяющим обилие цветения, а следовательно, и декоративность растения. Максимальную оценку (3 балла) получили растения, формирующие более 11 соцветий на одном генеративном побеге. В нашем исследовании такими оказались сорта Айса, Белоснежка, Вродлива, Дружна Сімейка, Золотий Дукач, Золушка, Крижинка, Лелія, Марта, Новелла, Пак.

Форма (плотность) растения. Определяется визуально по количеству побегов на растении и по их стойкости к полеганию. Растения с компактным невысоким кустом декоративны и до

цветения. Они служат декоративным элементом цветника, а также являются хорошим фоном для летнецветущих видов.

Следует также учитывать и влияние на форму растения порывов ветра и сильных продолжительных дождей. Наивысшую оценку получают сорта, побеги которых не полегают, куст не разваливается, сохраняя декоративную форму весь вегетационный сезон.

По этому показателю высшую оценку (3 балла) получили следующие сорта: Brandindio, Boreus, Gigi White, Snow Elfe, Белоснежка, Віденський Бал, Гранатовый Браслет, Доктор Курц, Золота Амфора, Лемуния, Міраж, Пак, Первый Снег, Космічна и др.

Хуже других по этому показателю сорта Pink Bonguet, Trollbus, Белая Корейская, Желтая Корейская, Звездапад, Золотой Ключик, Казачка, Крымский Загар, Пектораль, Перстень Королеви, Чарівна Флейта.

Высота куста. Признак, который нередко сопряжен с компактностью куста. Как правило, чем выше растение, тем ниже его декоративность при неблагоприятных условиях. Часто побеги высокорослых сортов полегают, куст разваливается, что требует дополнительного ухода (подвязки к кольшкам), повышая трудозатраты на содержание цветника. Такие сорта получают 1–2 балла (Beason, Белая Корейская, Дебют, Жемчужная, Кремовая Драгоценность, Лето, Перстень Королеви).

Наши исследования показали, что максимальная высота кустов хризантем для цветников и бордюров не должна превышать 55 см. Поэтому сорта, кусты которых соответствуют этому показателю, оцениваются 3 баллами (Brandindio, Boreus, Holly, Gigi White, Rinko Bella, Айса, Біла Альтанка, Бузьковий Рай, Вродлива, Гранат, Зоряна Ніч, Золотоволоска, Золотий Дукат, Лінда, Марта, Нова Эра, Пак и др.) [6].

Более высокорослые сорта можно рекомендовать для создания цветников и композиций в ландшафтном дизайне, но при этом следует учитывать прочность их стеблей.

Облиственность побега (стебля). Наивысшую оценку (3 балла) получают сорта, у которых в течение всего периода вегетации стебли снизу доверху полностью покрыты листьями, образующими плотную массу по контуру куста, при этом центральные побеги могут не просматриваться. К таким сортам нами отнесены Brandindio, Buissonet, Sunny Blauze, Wee Villy Pink, Айса, Вродлива, Золота Амфора, Золотий Дукат, Новелла, Полянка, Страна Айгуль.

Зимостойкость. Важный биологический показатель, определяющий долговечность сорта в культуре. Климат Беларуси отличается неустойчивыми погодными условиями зимнего периода: частыми и большими перепадами температуры с температурным минимумом около $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, нередко, при отсутствии снежного покрова, оттепелями и дождями. Эти факторы отрицательно сказываются на перезимовке хризантемы корейской. Поэтому практикуется зимнее укрытие хризантемы с использованием листьев, торфа и других материалов, защищающих почки возобновления от действия низких температур. Сорта, которые хорошо зимуют без укрытия, получают 3 балла. Двумя баллами оцениваются сорта, зимнее повреждение которых достигает 50 %.

Большинство сортов коллекции ЦБС достаточно зимостойки. Среди них Boreus, Buissonet, Gigi White, Holly, Snow Elfe, Алекси, Айса, Белоснежка, Вродлива, Гранатовый Браслет, Дюймовочка, Золотоволоска, Осеннее Изобилие, Скифске Золото, Сонцевіт, Танго, Татьяна, Хамелеон, Энона, которые и получили высшую оценку – 3 балла.

Устойчивость к болезням и вредителям. В годы с дождливым летним сезоном хризантемы поражаются болезнями. Наиболее распространенным патогеном являются грибы рода *Fusarium* [7]. Для элиминирования грибной инфекции пораженные растения необходимо несколько раз обрабатывать химическими защитными препаратами, что запрещено в условиях города.

Высокую устойчивость к болезням (3 балла) проявили сорта Brandindio, Buissonet, Белоснежка, Вродлива, Гелиос, Гранатовый Браслет, Золотоволоска, Лемуния, Оксамитка, Промениста, Сонцевіт, Сударушка, Янтарь. К числу наиболее подверженных болезням сортов относятся Ellen Weiss, Padre White, Гранат, Дікий Мёд, Розовая Фея, Ромента, Сэккі, Тоамнэ, Крижинка, Метеорит.

Вегетативная подвижность. Отражает способность растений к естественному вегетативному размножению. У хризантемы корейской кусты разрастаются за счет новых побегов, форми-

руюцца из почек возобновления на корневищах. Появление новых побегов повышает кустистость растений, обеспечивает естественное возобновление после зимовки.

Согласно проведенной оценке, интенсивным вегетативным размножением (3 балла) характеризуются сорта Айса, Белоснежка, Вродлива, Гранатовый Браслет, Дюймовочка, Золотоволоска, Осеннее Изобилие.

Наименьшим регенерационным потенциалом (1–2 балла) обладают сорта Дебют, Жар Птица, Журавлинка, Загадка, Оранжевое Солнце, Розовая Фея, Фанфары, которые формируют за летний сезон единичные побеги.

Стабильность цветения. Очень важный показатель, характеризующий сорта, рекомендуемые для озеленения. Установлено, что стабильность цветения многих сортов хризантемы корейской зависит от погодных условий, среди которых важнейшими факторами, влияющими на развитие растений, являются свет и температура [8]. Считается, что высокая температура при интенсивном освещении не только тормозит рост хризантем, но и отрицательно сказывается на декоративности многих ее сортов (на яркости окраски, количестве соцветий и их размере). Так, у некоторых сортов (Алекси, Дікий Мёд, Казачка, Кнопка, Колобок, Кружевница, Лето, Розовая Драгоценность, Энона) в засушливые вегетационные периоды наблюдаются уменьшение количества бутонов и задержка цветения на 10–14 дней [9]. Такие сорта оцениваются 2 баллами.

Нерегулярно цветущие с низким обилием цветения сорта Анна Ярославна, Доктор Курц, Плюшевый Мішка, Роментка, Светозар, Царица Тамара, Чарівна Флейта оцениваются 1 баллом, а ежегодно стабильно цветущие сорта Helly, Snow Elfe, Айса, Белоснежка, Вродлива, Золотоволоска, Осеннее Изобилие, Космічна, Кміс, Светлячок, Сонцевіт, Сударушка, Танго, Янтарь – 3 баллами.

Продолжительность цветения. Хризантема – растение короткого дня, реагирующее на сокращение светлого времени суток [8]. Начало бутонизации, формирование соцветий и цветение в климатических условиях Беларуси приходится на июль – октябрь. Анализ сезонного роста и развития сортов хризантемы корейской коллекции ЦБС НАН Беларуси позволил выделить 5 фенологических групп по срокам цветения [9]:

«очень ранние» – зацветают во второй декаде июня (Swemba Care, Дочь Розетты, Золотоволоска);

«ранние» – начинают цвести в третьей декаде июля (Вродлива, Журавлинка, Крижинка, Промениста, Сонечко);

«средние» – зацветают во второй декаде августа (Белоснежка, Гранат, Жар Пустелі, Золотий Дукач, Перлинка Белая, Фанфары);

«среднепоздние» – вступают в фазу цветения во второй декаде сентября (Гранатовый Браслет Дікий Мёд, Загадка, Звездопад, Крихітка, Кружевница, Перстень Королеви);

«поздние» – цветут с начала или во второй половине октября (Jolder, Вересневий Бісер, Олеся, Чарівна Флейта, Чураївна, Юрий Богатиков).

Сравнительный анализ данных фенологических наблюдений показал, что в местных условиях наибольшая продолжительность массового цветения (более 50 дней) присуща сортам средних сроков цветения (феногруппа «средние»), зацветающим в середине августа. Очень ранние и ранние сорта хризантем цветут в среднем 20–25 дней. Цветение среднепоздних сортов зависит от погодных условий (нередко цветение этих сортов прерывается наступившими заморозками) и обычно составляет не более 20 дней. Поздние сорта не успевают войти в стадию цветения, которое возможно только в годы с теплой продолжительной осенью.

Сорта, период цветения которых составляет более 50 дней, оцениваются 3 баллами, с меньшей продолжительностью цветения – 1–2 баллами.

Долголетие в культуре. Считается, что хризантема корейская может расти без пересадки, сохраняя декоративность в течение 4–5 лет. Вместе с тем в процессе наблюдений нами отмечены сорта, для которых характерно снижение или потеря декоративности уже на второй год культивирования. Их необходимо ежегодно омолаживать за счет черенкования, что повышает материальные затраты на создание и поддержание цветника. Такие сорта оцениваются 1 баллом (Boreus, Brandindio, Padre White, Rinko Bella, Wee Villy Pink, Белый Шар, Дочь Розетты, Клеопатра, Колобок, Міраж, Плюшевый Мішка, Нова Эра, Танго).

Сорта, сохраняющие свою декоративность в течение 3–4 лет, получают 2 балла (Дебют, Осеннее Изобилие, Опал, Лето, Метеорит).

Сорта, обладающие способностью сохранять декоративную привлекательность без пересадки более 4 лет и у которых с каждым годом увеличивается продуктивность цветения, оцениваются 3 баллами (Snow Elfe, Айса, Белоснежка, Гранат, Золота Амфора, Золушка, Космічна, Лелія, Лемуния, Марта, Мишаль, Пак и др.). Сорт с такими качествами в нашей коллекции насчитывается около 60 %.

Суммировав баллы по всем показателям, получаем интегральную оценку для каждого сорта. Наиболее высокую сумму баллов получили сорта хризантемы корейской Altgold, Voreus, Vuissonet, Белоснежка, Вродлива, Золота Амфора, Золотоволоска, Золотий Дукач, Космічна, Кміс, Лелія, Лемуния, Марта, Опал, Первый Снег, Промениста, Светлячок, Сударушка, Танго, Чебурашка, Янтарь. Выделенные сорта отличаются невысокими компактными кустами, устойчивыми к полеганию, ежегодным обильным и продолжительным цветением, зимостойкостью и устойчивостью к заболеваниям и вредителям. Их можно рекомендовать для цветочного (в том числе и контейнерного) оформления городов и населенных пунктов Беларуси, а также для любительского цветоводства.

Минимальная сумма баллов у сортов Weason, Orchid Helen, Вечерние Грёзы, Виктория, Гебе, Гелиос, Гранат, Дебют, Дочь Розетты, Дікий Мёд, Загадка, Малютка, Ожерелье, Сэкі, Чарівна Флейта, Чураівна. Кусты этих сортов склонны к полеганию, растения неустойчивы к заболеваниям, цветут нерегулярно, отличаются пониженной зимостойкостью.

Заключение. Предложенная методика комплексной оценки сортов хризантемы корейской по 11 декоративным и биологическим показателям научно обосновывает использование сортов хризантемы корейской для промышленного озеленения населенных пунктов. На основе данной методики, апробированной на коллекционном фонде хризантемы корейской Центрального ботанического сада НАН Беларуси, отобраны перспективные сорта.

Список использованных источников

1. Дьяченко, Н. Г. Хризантемы корейские / Н. Г. Дьяченко. – М. : Изд. дом МСП, 2011. – 32 с.
2. Цеханович, С. В. Корейская хризантема (*Chrysanthemum coreanum* Nakai) в коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси / С. В. Цеханович // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: материалы III Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию со дня рождения акад. Н. В. Смольского (7–9 окт. 2015 г., Минск) : в 2 ч. / ред. : В. В. Титок [и др.]. – Минск, 2015. – Ч. 1. – С. 497–499.
3. Горобец, В. Ф. Интродукционное сортоизучение мелкоцветковых хризантем / В. Ф. Горобец, Л. И. Завидова // Интродукция и акклиматизация растений : респ. межвед. сб. науч. тр. – Киев, 1987. – Вып. 8. – С. 40–43.
4. Былов, В. Н. Основы сортоизучения и сортооценки декоративных растений при интродукции / В. Н. Былов // Бюл. Гл. бот. сада. – 1971. – Вып. 81. – С. 69–77.
5. Дворянинова, К. Ф. Хризантема: интродукция, биология и агротехника / К. Ф. Дворянинова. – Кишинев : Штиинца, 1982. – 167 с.
6. Цеханович, С. В. Интродукция новых сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum* Nakai) в ЦБС НАН Беларуси // Цветоводство: история, теория, практика : материалы VII Междунар. науч. конф. (24–26 мая 2016 г., Минск) / ред. : В. В. Титок [и др.]. – Минск, 2016. – С. 231–233.
7. Балыкина, Е. Б. Вредоносность фитомикозов рода *Fusarium* на хризантеме садовой / Е. Б. Балыкина, О. В. Иванова, Н. В. Смыкова // Сб. науч. тр. Гос. Никит. бот. сада. – 2017. – № 145. – С. 252–257.
8. Шмыгун, В. Н. Хризантемы / В. Н. Шмыгун. – М. : Наука, 1972. – 115 с.
9. Цеханович, С. В. Особенности роста и развития сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*), интродуцированных в Беларуси / С. В. Цеханович // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2017. – № 2. – С. 94–99.

References

1. D'yachenko N. G. *Chrysanthemums korean*. Moscow, Izdatel'skii dom MSP Publ., 2011. 32 p. (in Russian).
2. Tsekhanovich S. V. Korean chrysanthemum (*Chrysanthemum coreanum* Nakai) in the collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. *Problemy sokhraneniya biologicheskogo raznoobraziya i ispol'zovaniya biologicheskikh resursov: materialy III Mezhdunarodnoi konferentsii, posvyashchennoi 110-letiyu so dnya rozhdeniya akademika N. V. Smol'skogo (7–9 oktyabrya 2015 goda, Minsk). Chast' 1* [Problems of conservation of biological diversity and use of biological resources: materials of the III International conference, dedicated to the 110th anniversary of the birth of Academician N. V. Smolsky (October 7–9, 2015, Minsk). Part 1]. Minsk, 2015, pp. 497–499 (in Russian).

3. Gorobets V. F., Zavidova L. I. Introductory variety study of small-flowered chrysanthemums. *Introduktsiya i akklimatizatsiya rastenii: respublikanskii mezhvedomstvennyi sbornik nauchnykh trudov* [Introduction and acclimatization of plants: the republican interdepartmental collection of scientific works]. Kiev, 1987, iss. 8, pp. 40–43 (in Russian).
4. Bylov V. N. Fundamentals of variety study and variety evaluation of ornamental plants during introduction. *Byulleten' Glavnogo botanicheskogo sada* [Bulletin of the Main Botanical Garden], 1971, iss. 81, pp. 69–77 (in Russian).
5. Dvoryaninova K. F. *Chrysanthemum: introduction, biology and agricultural technology*. Kishinev, Shtiintsa Publ., 1982. 167 p. (in Russian).
6. Tsekhanovich S. V. The introduction of new varieties of chrysanthemum Korean (*Chrysanthemum coreanum* Nakai) in the CDG of NAS of Belarus. *Tsvetovodstvo: istoriya, teoriya, praktika: materialy VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (24–26 maya 2016 goda, Minsk)* [Floriculture: history, theory, practice: materials of the VII International scientific conference (May 24–26, 2016, Minsk)]. Minsk, pp. 231–233 (in Russian).
7. Balykina E. B., Ivanova O. V., Smykova N. V. Harmful phytomycosis of the genus *Fusarium* on garden chrysanthemum. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* [Collection of scientific works of the State Nikitsky Botanical Garden], 2017, no. 145, pp. 252–257 (in Russian).
8. Shmygun V. N. *Chrysanthemums*. Moscow, Nauka Publ., 1972. 115 p. (in Russian).
9. Tsekhanovich S. V. Peculiarities of growth and development of Korean chrysanthemum varieties (*Chrysanthemum coreanum*) introduced in Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 2, pp. 94–99 (in Russian).

Информация об авторе

Цеханович Светлана Витальевна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: S.Tsekhanovich@cbg.org.by

Information about the author

Sviatlana V. Tsekhanovich – Junior researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: S.Tsekhanovich@cbg.org.by

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

УДК 582.29
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-40-47>

Поступила в редакцию 30.03.2018
Received 30.03.2018

А. П. Яцына

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

ЛИШАЙНИКИ РОДА *LEPRARIA* В БЕЛАРУСИ: ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИДОВ

Аннотация. Распространенным на территории Беларуси стерильным накипным лишайникам, т. е. тем видам, которые не образуют плодовых тел, отечественные ученые начали уделять особое внимание лишь в начале XXI в., несмотря на то, что уже в 60–70-е годы XX в. были разработаны методики по определению в них лишайниковых веществ.

Объектами исследования служили гербарные образцы лишайников рода *Lepraria* в количестве 68 гербарных пакетов из коллекции лишайников MSK-L. В результате проведенных исследований по изучению вторичных метаболитов в образцах и морфологических особенностей видов установлено, что данные образцы представлены 9 видами из рода *Lepraria*: *L. caesioalba*, *L. eburnea*, *L. elobata*, *L. finkii*, *L. incana*, *L. jackii*, *L. neglecta*, *L. rigidula* и *L. vouauxii*. Лишайник *Lepraria caesioalba* приводится для территории республики впервые. Установлена биотопическая и субстратная приуроченность лишайников рода *Lepraria*. Выявлен качественный состав вторичных метаболитов изученных образцов. Среди представленных видов на территории Беларуси часто встречаются лишайники *L. incana* и *L. finkii*. Определенный с помощью метода тонкослойной хроматографии гербарный материал по лишайникам рода *Lepraria* можно использовать в подготовке очередного тома многотомного издания «Флора лишайников Беларуси».

Ключевые слова: лишайник, образец, биоразнообразие, хемотаксономия, тонкослойная хроматография, вторичные метаболиты, субстрат, экология

Для цитирования: Яцына, А. П. Лишайники рода *Lepraria* в Беларуси: экология и распространение видов / А. П. Яцына // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 40–47. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-40-47>

A. P. Yatsyna

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

LICHENS GENUS *LEPRARIA* IN BELARUS: ECOLOGY AND DISTRIBUTION OF SPECIES

Abstract. Sterile crustose lichens, i. e., those species that do not form fruiting bodies on the territory of Belarus, domestic scientists started to focus only at the beginning of the 21st century, despite the fact that already in the 60–70's in the 20th century and methods for determining lichen substances in lichens were developed.

Subjects of the study were herbarium specimens of lichenized fungi of the genus *Lepraria* in the amount of 68 herbarium bags from the collection of lichens MSK-L. As a result of the determination of secondary metabolites in the samples and the use of morphological features, it is established that the samples studied are represented by 9 species from the genus *Lepraria*: *L. caesioalba*, *L. eburnea*, *L. elobata*, *L. finkii*, *L. incana*, *L. jackii*, *L. neglecta*, *L. rigidula* и *L. vouauxii*. Lichen *Lepraria caesioalba* first time provides for the territory of the republic. The biotopes and substrate association of lichens with the genus *Lepraria* has been established. The qualitative composition of secondary metabolites of the studied samples is revealed. Among certain species, lichens *L. incana* and *L. finkii* are common on the territory of Belarus. The herbarium material on lichens of the genus *Lepraria* determined using TLC can be used in the preparation of the next volume of “Flora of lichens of Belarus”.

Keywords: lichen, sample, biodiversity, chemotaxonomy, thin-layer chromatography, secondary metabolites, substrate, ecology

For citation: Yatsyna A. P. Lichens genus *Lepraria* in Belarus: ecology and distribution of species. *Vesti Natsyyanal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 40–47 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-40-47>

Введение. Род *Lepraria* Ach. относится к семейству *Stereocaulaceae* Chevall., всего в мире насчитывается примерно 80 видов лишайников [1]. В талломах видов рода *Lepraria* обнаружено более 50 лишайниковых веществ (ЛВ), или вторичных метаболитов (ВМ). Хемотаксономические

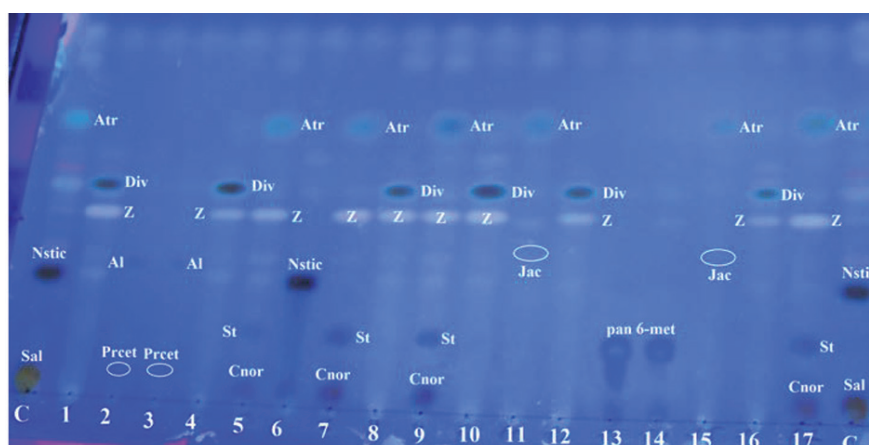
признаки играют решающую роль в систематике этой стерильной группы лишайников. Для идентификации большинства видов рода, как правило, используют стандартный набор химических реактивов (К, С, КС и Р) и ультрафиолетовую лампу длинноволнового излучения (UV, длина волны 350 нм), а кроме того, изучают состав ЛВ методом тонкослойной хроматографии (TLC). В настоящее время на территории Беларуси насчитывается около 670 видов лишайников, или лишайнизированных грибов. Почти у 10 % из них следует определить качественный состав ВМ для точной идентификации вида. Лишь установив состав ЛВ, можно приступить к определению вида с помощью морфологических признаков. Род *Lepraria* в республике ранее насчитывал 9 видов: *L. eburnea*, *L. ecorticata*, *L. elobata*, *L. finkii*, *L. incana*, *L. jackii*, *L. neglecta*, *L. rigidula* и *L. vouauxii* [2].

Цель работы – изучить качественный состав вторичных метаболитов у белорусских образцов лишайников рода *Lepraria*, выявить субстратную и биотопическую их приуроченность и дополнить сведения о распространении этих видов в республике.

Объекты и методы исследования. Объектами для данного исследования послужили 68 образцов лишайников рода *Lepraria*, хранящихся в коллекции лишайников MSK-L Института экспериментальной ботаники им В. Ф. Купревича НАН Беларуси. Образцы лишайников собраны преимущественно автором из 31 административного района республики. Образцы собирали по общепринятой методике в различных биотопах, на большинстве типов субстратов, представленных в республике. Морфологию образцов изучали при помощи бинокля Olympus SZ 6 и микроскопа Olympus BX 51, состав ВМ – методом TLC в системе растворителей С [3]. В качестве контроля использовали ЛВ, содержащиеся в *Phlyctis argena* (Ach.) Flot. и *Parmelia sulcata* Taylor. Качественный состав ЛВ изучали в Институте ботаники (г. Вильнюс, Литва).

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований по изучению ВМ и морфологических особенностей видов установлено, что 68 образцов относятся к 9 видам лишайников из рода *Lepraria*: *L. caesioalba* (1 образец), *L. eburnea* (5), *L. elobata* (5), *L. finkii* (22), *L. incana* (20), *L. jackii* (6), *L. neglecta* (3), *L. rigidula* (1), *L. vouauxii* (5). С помощью UV определен набор некоторых ЛВ (см. рисунок). Лишайник *Lepraria caesioalba* приводится для территории республики впервые.

Приведем краткое морфологическое описание рода *Lepraria*, его отличительные особенности от других видов, химический состав полученных ЛВ, данные об экологии, распространении и исследованных образцах, на основании которых выполнена работа.



Набор лишайниковых веществ, выявленных с помощью UV, у различных видов лишайников рода *Lepraria* (1, 4, 8, 10, 12, 16 – *Lepraria incana*; 2, 3 – *L. eburnea*; 5, 7, 9, 17 – *L. finkii*; 11, 15 – *L. jackii*; 13, 14 – *L. vouauxii*; 6 – *Phlyctis argena* (Ach.) Flot.): Atr – атранорин, Nstic – норстиктовая к-та, Sal – салазиновая к-та; Div – диварикативная к-та, Z – зеорин, Al – алекториальная к-та, Prcet – протоцетраровая к-та, St – стиктовая к-та, Cnor – коннорстиктовая к-та, Jac – джекниевая к-та, pan 6-met – 6-метилловый эфир паннарной кислоты, C – контроль

A set of lichen substances under the influence of UV in various species of lichens of the genus *Lepraria* (1, 4, 8, 10, 12, 16 – *Lepraria incana*; 2, 3 – *L. eburnea*; 5, 7, 9, 17 – *L. finkii*; 11, 15 – *L. jackii*; 13, 14 – *L. vouauxii*; 6 – *Phlyctis argena* (Ach.) Flot.): Atr – atranorin, Nstic – norstictic acid, Sal – salazinic acid; Div – divaricatic acid, Z – zeorin, Al – alectorialic acid, Prcet – protocetraric acid, St – stictic acid, Cnor – connorstictic acid, Jac – jackinic acid, pan 6-met – pannaric acid 6-methyl ester, C – control

1. *Lepraria caesioalba* (B. de Lesd.) J. R. Laundon – Лепрария голубовато-белая.

Таллом лепрозный, беловатого, темно-серого или темно-серовато-голубоватого цвета. Этот вид содержит несколько хемотипов. Белорусский образец относится к хемотипу I (содержит атранорин, фумарпротоцетрариевую и рокцелловую кислоты). Лишайник впервые приводится для лишенобиоты республики. Вид, близкий к *L. borealis*, но отличается от него темно-серым или темно-серовато-голубоватым цветом таллома и набором ЛВ. Лишайник *L. borealis* содержит, кроме атранорина, рангиформовую и норрангиформовую кислоты. От эпилитного лишайника *L. neglecta* отличается отсутствием реакцией с С (насыщенный водный раствор хлористого кальция), не содержит алекториаловой кислоты.

Химический состав. Атранорин, фумарпротоцетрариевая и рокцелловая кислота.

Экология. Лишайник *Lepraria caesioalba* не имеет четкой приуроченности к субстратам [4].

Распространение в Беларуси. Вид впервые приводится для лишенобиоты республики. Образец найден на коре дуба черешчатого в усадебном парке.

Исследованные образцы. Минская обл., Минский р-н, д. Сёмково. В парке. 18.03.2011. Coll. Яцына А. П. На коре *Quercus robur* L. (MSK-L 6852).

2. *Lepraria eburnea* J. R. Laundon, Lichenologist 24: (1992) 331. – Лепрария желтовато-белая.

Таллом порошистый, рассеянный, состоящий из массы рыхлых сферических зерен, обычно формирует толстую рыхлую кору, ярко-беловато-серого цвета, с оттенком от зеленоватого до желтоватого. Таллом от С желтеет, со временем розовеет. Вид *L. neglecta* отличается от *L. eburnea* розетковидным талломом без зеленоватого или желтоватого оттенка и более крупными консоредиями, от морфологически близких видов *L. vouauxii* и *L. finkii* – набором ВМ.

Химический состав. Известны три хемотипа *L. eburnea*. Белорусские образцы представлены хемотипом I, т. е. кроме алекториаловой кислоты содержат еще и протоцетраровую кислоту (см. рисунок).

Экология. На территории Беларуси лишайник ранее был отмечен только на коре *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. и на почве [5]. Образцы встречались на трех типах субстратов: на коре *Alnus incana*, *Pinus sylvestris*, на древесине *Picea abies* и на почве.

Распространение в Беларуси. В республике вид *L. eburnea* ранее был известен из двух локалитетов: Каменецкого района Брестской области и Гродненского района Гродненской области [5]. Лишайник впервые приводится для Витебской области и отмечен в трех административных районах: Браславском, Витебском и Лиозненском.

Исследованные образцы. Витебская обл., Браславский р-н, НП «Браславские озера», окр. д. Слободка. 04.08.2010. Coll. Яцына А. П. Черноольшаник папоротниковый. У основания замшелого ствола *Alnus incana* (L.) Moench (MSK-L 4630); НП «Браславские озера», окр. д. Будины. 07.08.2010. Coll. Яцына А. П. Ельник кисличный. У основания трухлявого ствола *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 4566); НП «Браславские озера», окр. д. Зарачье. Крыница, на берегу р. Рака. 29.04.2010. Coll. Яцына А. П. На склоне обрыва у крыницы. На коре *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 4257); Витебский р-н, окр. г. Руба, доломитовый карьер «Гралево». 30.07.2009. Coll. Яцына А. П. На склоне холма, возле озера. На почве, среди мхов (MSK-L 3073); Лиозненский р-н, окр. д. Рудаки. 25.08.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. На почве. Обнажения (MSK-L 4712).

3. *Lepraria elobata* Tønsberg, Sommerfeltia 14: (1992) 197. – Лепрария безлопастная.

Таллом порошистый, рассеянный, без лопастей, формирует тонкий слой отдельно лежащих соредий, голубовато- или зеленовато-серого цвета. Соредии тонкие, мучнистые, без выступающих гиф. Сердцевина не выражена. Отличается от близкого вида *L. finkii*, который характеризуется хорошо развитой белой сердцевинной и соредиями с длинными выступающими гифами, а от *L. incana* – химическим составом.

Химический состав. Лишайник содержит атранорин, зеорин и стиктовую кислоту.

Экология. На территории Беларуси вид произрастает в еловых и сосновых лесах, предпочитает в качестве субстрата кору сосны и ели, реже – древесину хвойных пород [6].

Распространение в Беларуси. Вид отмечен во всех областях республики, встречается часто. В Минской области лишайник *L. elobata* приводится для следующих районов: Воложинского, Логойского, Минского, Молодечненского, Столбцовского [6]. Нами вид отмечен в новых районах: Вилейском, Дзержинском и Пуховичском.

Исследованные образцы. Минская обл., Вилейский р-н, окр. д. Петрилово. 23.05.2012. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. На трухлявом пне сосны (MSK-L 9847); Воложинский р-н, д. Новый Двор. 19.08.2013. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 12382); Дзержинский р-н, окр. Новая Мезеновка (3 км на ССЗ). 24.07.2009. Coll. Юрченко Е. О. Сосняк вересково-мшистый. На стволе *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 8658); Минский р-н, г. Минск. Парк Челюскинцев. 10.01.2014. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 12814); Пуховичский р-н, окр. д. Блужа. ООПТ Биологический заказник «Матеевичский». 18.06.2010. Coll. Яцына А. П. Ельник чернично-мшистый. На коре *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 4406).

4. *Lepraria finkii* (B. de Lesd.) R. C. Harris, Evansia 2 (3): (1985) 45. – **Лепрария Финки.**

Таллом порошистый, в виде толстой, более или менее ограниченной корки, без краевых лопастей, состоит из массы рыхло лежащих зерен различного размера, от светло- и серо-зеленого до беловато-серого цвета, часто с голубовато-зеленым оттенком. Соредии от мучнистых до зернистых, с короткими или длинными выступающими гифами и слабо развитой корой. Сердцевина белая, толстая. Изменчивый как по окраске, так и по морфологии вид, но по составу ЛВ более-менее однороден. По химическому составу близок к *L. elobata*, однако у последнего никогда не образуется выраженная сердцевина, не формируются длинные выступающие гифы на поверхности более мелких мучнистых соредий.

Химический состав. Лишайник содержит атранорин, стиктовую и констиктовую кислоты, зеорин (см. рисунок).

Экология. Ранее на территории республики лишайник *L. finkii* отмечен преимущественно во влажных еловых насаждениях (21 образец), остальные виды были собраны в сосновых, дубовых или грабовых лесах. Вид не требователен к субстрату, но большинство ранее выявленных образцов найдено на коре хвойных и лиственных пород, реже – на древесине, бетоне и мхах [6]. Около половины отмеченных нами локалитетов лишайника *L. finkii* относятся к селитебным территориям: паркам, скверам, кладбищам. Лишайник предпочитает в качестве субстрата кору деревьев и встречается на 10 породах деревьев. Четкой приуроченности к древесным породам у вида нет, он равномерно встречается на всех породах, реже – на бетоне и почве.

Распространение в Беларуси. Нами вид выявлен в 22 локалитетах из 15 административных районов республики. Впервые лишайник приводится для следующих районов: Браславского, Россонского, Слонимского, Вилейского, Воложинского, Логойского, Молодечненского, Несвижского, Узденского, Червенского, Глусского и Осиповичского.

Исследованные образцы. Витебская обл., Браславский р-н, НП «Браславские озера», Браславское л-во, кв. 140, выд. 24. окр. д. Ахремовцы. 02.11.2015. Coll. Яцына А. П. Ясенник снытевый. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 15079); Россонский р-н, заказник «Красный бор», окр. д. Прохорово. 18.08.2015. Coll. Яцына А. П. Ельник черничный. На коре *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (MSK-L 14915). Гомельская обл., Житковичский р-н, НП «Припятский». Снядинское л-во, кв. 75, окр. д. Хлупинская Буда. 27.09.2011. Coll. Яцына А. П. Дубрава разнотравная. На стволе *Populus tremula* L. (MSK-L 8160). Гродненская обл., Гродненский р-н, Гродненская крепость, форт № 8, окр. д. Гибуличи. 14.08.2014. Coll. Яцына А. П. Сосняк кисличный. На бетоне (MSK-L 13429); Слонимский р-н, ООПТ Биологический заказник «Слонимский», окр. ж/д ст. Исса. 1,5 км к СВ. 01.04.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. На стволе *Betula pendula* Roth. (MSK-L 4017). Минская обл., Вилейский р-н, д. Вязань. 09.08.2012. Coll. Яцына А. П. В парке. На стволе *Quercus robur* L. (MSK-L 10544); Хотенчицкий с/с, д. Луковец, ППМЗ парк «Луковец». 19.10.2012. Coll. Яцына А. П. В парке. На стволе *Ulmus glabra* Huds. (MSK-L 10894); Воложинский р-н, окр. д. Вишнево. ППМЗ, парк «Андрифонш». 02.10.2013. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (MSK-L 12547); д. Десятники. 13.07.2010. Coll. Яцына А. П. На старом кладбище, захоронения Первой мировой войны. На каменном заборе (MSK-L 4510); Логойский р-н, окр. д. Мал. Янушковичи. 04.09.2009. Coll. Яцына А. П. На возвышенности, среди берез и осин, дот. Под плитой старого дота, на почве (MSK-L 3255); окр. д. Чуденичи. 01.03.2008. Coll. Яцына А. П. Березняк черничный. У основания замшелого ствола *Betula pendula* Roth. (MSK-L 4417); Молодечненский р-н, Хотенчицкое л-во, окр. д. Петрилово. 23.05.2012. Coll. Яцына А. П. На берегу р. Конотопка. На стволе *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (MSK-L 9851); Минский р-н, д. Самохваловичи. 12.04.2012. Coll. Яцына А. П. На обочине дороги, посадка сирени. На почве, среди

мха (MSK-L 9721); д. Сёмково. В парке. 18.03.2011. Coll. Яцына А. П. На замшелом стволе *Quercus robur* L. (MSK-L 6851); д. Калинино. ППМЗ, парк «Игнатичи». 12.04.2012. Coll. Яцына А. П. В парке. В расщелинах коры *Salix fragilis* L. (MSK-L 9734); Несвижский р-н, г. Альба. ППРЗ. 05.06.2014. Coll. Яцына А. П. В парке. На стволе *Acer platanoides* L. Herbarium (MSK-L 13306); г. Несвиж. ППРЗ, парк «Несвиж» (Замковый и Старый парки). 24.03.2014. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 12952); Узденский р-н, д. Первомайск. 29.07.2013. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Fraxinus excelsior* L. (MSK-L 12251); д. Толкачевичи. 31.10.2013. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 12677); Червенский р-н, д. Рованичи. ППРЗ, парк «Рованичи». 17.10.2013. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Fraxinus excelsior* L. (MSK-L 12606). **Могилевская обл.**, Глусский р-н, Славковичское л-во, кв. 54, выд 10, окр. д. Славковичи. 26.04.2011. Coll. Яцына А. П. Дубрава кисличная с ясенем и грабом. На стволе *Carpinus betulus* L. (MSK-L 7308); Осиповичский р-н, окр. д. Шейпичи. 1,5 км на СЗ. Октябрьское л-во, кв. 24, выд. 31. Coll. Яцына А. П. 07.04.2016. Дубрава кисличная. На коре *Carpinus betulus* L. (MSK-L 16626).

5. *Lepraria incana* (L.) Ach., Methodus, Sectio prior (Stockholmiaë): (1803) 4. – Лепрария седая.

Таллом порошистый, состоящий из массы рыхло расположенных сферических зерен, слабо или хорошо развитый, зеленовато- или беловато-серого цвета. В UV он отчетливо флуоресцирует голубовато-белым цветом. Виды не содержат дивариковатой кислоты, морфологически близкие виды *L. elobata* и *L. umbricola* не флуоресцируют в UV.

Химический состав. Лишайник содержит дивариковатую кислоту и зеорин (см. рисунок).

Экология. Виды *L. incana*, как и *L. finkii*, довольно широко встречаются на территории республики по сравнению с другими видами рода *Lepraria* и не имеют четкой приуроченности к субстратам, встречается на коре лиственных и хвойных деревьев, на растительных остатках, почве, бетоне в затененных и умеренно освещенных местах.

Распространение в Беларуси. На территории республики лишайник *Lepraria incana* встречается спорадически и отмечен в 30 административных районах Беларуси [7]. Нами лишайник отмечен в 20 локалитетах из 16 административных районов республики, впервые приводится для 10 районов: Браславского, Быховского, Дзержинского, Клецкого, Копыльского, Логойского, Кировского, Осиповичского, Смолевичского и Хойникского. Вид встречается как в лесах (ельники, березняки, дубравы и сосняки), так и на селитебных территориях: в парках и скверах. Отмечен на коре 7 пород деревьев: *Alnus incana*, *Betula pendula*, *Larix decidua*, *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, *Quercus robur* и *Tilia cordata*, реже – на древесине и валунах.

Исследованные образцы. Брестская обл., Барановичский р-н, г. Барановичи. Старый парк. 23.10.2014. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 13674); д. Крошин. Усадьба Святополк-Завадских. 01.10.2014. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 13578); Ляховичский р-н, д. Грушевка. 21.06.2017. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Acer platanoides* L. (MSK-L 18496). **Витебская обл.**, Браславский р-н, НП «Браславские озера», окр. д. Ахремовцы. В парке. 21.04.2015. Coll. Яцына А. П. Ельник кисличный. На коре *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 14137). **Гомельская обл.**, Житковичский р-н, окр. д. Новые Залютичи, 1,5 км на Ю. Река Случь. 21.08.2013. Coll. Яцына А. П. Пойменная дубрава. На коре *Quercus robur* L. (MSK-L 12487); Хойникский р-н, ООПТ «Полесский государственный радиационно-экологический заповедник». Воротецкое л-во, кв. 52. 27.03.2014. Coll. Маленок Л. В. На коре *Alnus incana* (L.) Moench (MSK-L 14186). **Гродненская обл.**, Волковысский р-н, окр. д. Вережки. Берестовицкое л-во, кв. 217, выд. 1. 06.08.2015. Coll. Яцына А. П. Сосняк кисличный. На коре *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 14734). **Минская обл.**, Дзержинский р-н, д. Великие Новоселки. 25.04.2013. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Larix decidua* Mill. (MSK-L 11856); окр. д. Городище. 08.05.1989. Coll. Полешук Ю. А. Сосняк злаковый. На коре *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 17426); Воложинский р-н, Воложинский лесхоз, Румское л-во, кв. 38, окр. д. Рум. ООПТ Ландшафтный заказник «Налибокский». 06.07.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк лишайниково-мшистый. На трухлявом пне *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 4490); Клецкий р-н, д. Красная Звезда, ППРЗ, парк Радзивиллимонты. 53°00'35,0"N, Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 12817); Копыльский р-н, Орликовское л-во, кв. 34. 09.07.1984. Coll. Кобзарь Н. Н. Ельник кисличный. На коре *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 9699); Логойский р-н, окр. д. Чуденичи, 1,5 км на ЮВ. 01.03.2008. Coll. Яцына А. П. Березняк черничный. На коре *Betula pendula* Roth. (MSK-L 878); Минский р-н, д. Аннополь. 23.03.2012. Coll. Яцына А. П.

В парке. На стволе *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 9572); г. Минск, парк-музей камней в микрорайоне Уручье. 17.10.2014. Coll. Яцына А. П. Музей валунов. На валуне (MSK-L 13682); Смолевичский р-н, д. Шипяны ППМЗ «Шипяны». 19.07.2012. Coll. Яцына А. П. В парке. На стволе *Quercus robur* L. (MSK-L 10345). **Могилевская обл.**, Быховский р-н, д. Грудиновка. 15.08.2017. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 18801); Кировский р-н, окр. д. Борки, Бобруйский лесхоз, Грибовецкое л-во, кв. 81, выд. 34. Coll. Яцына А. П. Ельник кисличный. На коре *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 19184); д. Жиличи. ППРЗ. 06.09.2017. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 19106); Осиповичский р-н, окр. д. Елизово. 1–2 км на З. Осиповичский лесхоз, Октябрьское л-во, кв. 25, выд. 23. 53°23'30,8"N, 28°58'02,6"E. 21.03.2017. Coll. Яцына А. П. Ельник кисличный. На коре *Picea abies* (L.) Karst. (MSK-L 18326).

6. *Lepraria jackii* Tønsberg, Sommerfeltia 14: (1992) 200. – Лепрария Джека.

Таллом порошистый, без лопастей, светло-, серовато- или желтовато-зеленого цвета, иногда с голубоватым оттенком. Соредии от мучнистых до зернистых, до 50 мкм в диаметре, голые или с короткими выступающими гифами до 10 мкм длины, простые или собраны в консоредии до 80 мкм в диаметре. От большинства других видов рода отличается содержанием джекиевой кислоты, от *L. rigidula* – также отсутствием длинных (до 120 мкм) выступающих гиф, от *L. elobata* и *L. eburnea* – наличием ВМ.

Химический состав. Отличительной особенностью лишайника *Lepraria jackii* от других видов является наличие джекиевой кислоты, а также присутствием в талломе атранорина (см. рисунок).

Экология. Вид известен из хвойных лесов Беларуси, встречается на коре сосны и ели, реже – на древесине [8]. Наши сборы подтверждают биотопную и субстратную приуроченность лишайника. Вид *Lepraria jackii* отмечен нами в еловых и сосновых лесах республики на коре хвойных пород деревьев, реже – на древесине и валуне.

Распространение в Беларуси. Нами вид выявлен в 6 локалитетах из 6 административных районов республики. Впервые лишайник приводится для следующих районов: Браславского, Лепельского, Слонимского, Копыльского и Пуховичского [8].

Витебская обл., Браславский р-н, ООПТ НП «Браславские озера», окр. д. Будилы. 16.06.2011. Coll. Яцына А. П. На границе сосняка багульникового и чернично-мшистого. На валуне (MSK-L 7613); Лепельский р-н, ООПТ Березинский биосферный заповедник. Лепельский лесхоз, Крайцевское л-во, кв. 373. окр. д. Крайцы. 30.09.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. На трухлявой древесине *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 4786). **Гродненская обл.**, Слонимский р-н, ООПТ Биологический заказник «Слонимский», окр. ж/д ст. Исса. 1,2 км на СВ. 03.06.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. На стволе *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 4358). **Минская обл.**, Копыльский р-н, Орликовское л-во, 41. 09.07.1984. Coll. Кобзарь Н. Н. Det. Яцына А. П. Ельник кисличный. У основания ствола *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 9671); Молодечненский р-н, окр. д. Удранка, 0,7 км к ЮЗ. 20.05.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. На трухлявом стволе *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 4307); Пуховичский р-н, Блужский с/с, окр. д. Блужа. 0,7 км к ЮЮВ. 18.06.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый (посадки). На стволе *Pinus sylvestris* L. (MSK-L 4403).

7. *Lepraria neglecta* Vain., in Lettau, Acta Soc. Fauna Flora fenn. 57 (2): (1934) 366. – Лепрария незамеченная.

Таллом порошисто-зернистый, от светло- или темно-серого до голубовато-серого цвета (с розовым оттенком в старых гербарных образцах, что связано с присутствием в талломе алекториаловой кислоты). Таллом от С краснеет, от КС окрашивается в красновато-оранжевый цвет. Вид отличается от близких видов (*L. alpina*, *L. borealis*, *L. caesia* и *L. nivalis*) реакциями с КС, поскольку *L. neglecta* содержит алекториаловую кислоту.

Химический состав. Алекториаловая кислота.

Экология. На гранитных валунах в открытых местообитаниях.

Распространение в Беларуси. Лишайник ранее был известен из одного локалитета: на берегу озера Долгое Глубокского района Витебской области [9]. Вид впервые приводится для территории Гродненской области и обнаружен нами в 3 локалитетах из 3 административных районов: Островецкого, Ошмянского и Слонимского.

Исследованные образцы. Гродненская обл., Островецкий р-н, окр. д. Большие Столпеняты. 16.06.2015. Coll. Яцына А. П. На берегу пруда, среди малины. На валуне (MSK-L 14568); Ошмянский р-н, окр. д. Лойтевщина. ППМЗ «Лойтовщинский валун 2». 18.04.2017. Coll. Яцына А. П. На обочине проселочной дороги. На валуне (MSK-L 18225); Слонимский р-н, ООПТ Биологический заказник «Слонимский», окр. ж/д ст. Исса. 2,6 км на В. 01.04.2010. Coll. Яцына А. П. На открытом месте. На валуне, среди мхов (MSK-L 4115).

8. *Lepraria rigidula* (В. de Lesd.) Tønsberg, *Sommerfeltia* 14: (1992) 205 – **Лепрария желтоватая.**

Таллом порошистый, обычно толстый, беловатого- или голубовато-серого цвета. Соредии тонкие, мучнистые до грубых зернистых, с очень длинными выступающими гифами (длиной до 120 мкм) и хорошо развитой корой. Отличается от содержащей атранорин и жирные кислоты *L. jackii*, которая характеризуется длинными выступающими гифами и отсутствием желтоватого оттенка в окраске таллома.

Химический состав. Лишайник содержит атранорин и нефростериновую кислоту.

Экология. На территории республики вид *Lepraria rigidula* был собран в сосновом лесу и на открытой местности (обрывистый берег р. Днепр) [8]. Собранный нами образец отмечен на коре *Betula pendula* в сосняке мшистом.

Распространение в Беларуси. Лишайник из двух локалитетов – Буда-Кошелевского и Речицкого районов Беларуси [8]. Впервые приводится для Гродненской области.

Гродненская обл., Слонимский р-н, ООПТ Биологический заказник «Слонимский», окр. ж/д ст. Исса. 0,5 км к СВ. 01.04.2010. Coll. Яцына А. П. Сосняк мшистый. У основания ствола *Betula pendula* Roth. (MSK-L 3970).

9. *Lepraria vouauxii* (Hue) R. C. Harris, in Egan, *Bryologist* 90(2): (1987) 163. – **Лепрария Воузи.**

Таллом в виде толстой и грубой порошистой корки, от беловатого до зеленоватого- и желтовато-серого цвета. Соредии грубозернистые. Сердцевина белая. Полиморфный вид, близок к *L. tembranacea*, но отличается от него толстым, хорошо очерченным нелопастным талломом желтоватой окраски и составом ЛВ. От *L. eburnea* и *L. lobificans* отличается химическим составом.

Химический состав. 6-Метилловый эфир паннаровой кислоты (см. рисунок).

Экология. Как и многие виды из рода *Lepraria*, лишайник *L. vouauxii* не имеет четкой субстратной приуроченности. Ранее отмечался для естественных биотопов и обнаружен в городских условиях, отмечен на коре лиственных деревьев [5]. Наши образцы найдены на коре 5 пород: *Acer platanoides*, *Carpinus betulus*, *Fraxinus excelsior*, *Tilia cordata* и *Quercus robur*.

Распространение в Беларуси. Лишайник известен преимущественно в южной части республики: в Гомельской (Гомельский, Добрушский и Житковичский районы) и Брестской (Пружанский район) областях, где обнаружен в 6 локалитетах [5]. Вид отмечен нами в 5 локалитетах республики. Лишайник впервые приводится для Ляховичского и Столинского районов Брестской области, Минской и Могилевской областей.

Брестская обл., Ляховичский р-н, д. Грушевка. 21.06.2017. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Acer platanoides* L. (MSK-L 18495); Столинский р-н, Турско-Лядецкое л-во, кв. 10, окр. д. Хорск. 7 км на С от деревни. Ландшафтный заказник «Средняя Припять». 06.05.2014. Coll. Яцына А. П. Дубрава грабово-тростниковая. На коре *Quercus robur* L. (MSK-L 13196). **Минская обл.,** Вилейский р-н, д. Остюковичи, ППМЗ, парк «Остюковичи». 08.08.2012. Coll. Яцына А. П. В парке. На стволе *Fraxinus excelsior* L. (MSK-L 10627); Дзержинский р-н, д. Волма. Coll. Яцына А. П. В парке. На коре *Tilia cordata* Mill. (MSK-L 12427). **Могилевская обл.,** Глусский р-н, Глусский лесхоз, Славковичское л-во, кв. 65, выд. 8, окр. д. Славковичи. 26.04.2011 Coll. Яцына А. П. Дубрава снытевая с грабом, ясенем. На стволе *Carpinus betulus* L. (MSK-L 7246).

Заключение. В результате ревизии 68 гербарных образцов лишайников рода *Lepraria*, хранящихся в гербарии MSK-L, с использованием метода TLC выявлено 9 видов лишайников из рода *Lepraria*: *L. caesioalba* (1 образец), *L. eburnea* (5), *L. elobata* (5), *L. finkii* (22), *L. incana* (20), *L. jackii* (6), *L. neglecta* (3), *L. rigidula* (1) и *L. vouauxii* (5). Лишайник *Lepraria caesioalba* приводится для Беларуси впервые. Установлена биотопическая и субстратная приуроченность лишайников рода *Lepraria*. Выявленные новые местонахождения лишайников дополняют сведения о встречаемости видов как на территории Беларуси, так и в мире. Определенный с помощью TLC гербарный материал по лишайникам рода *Lepraria* можно использовать в подготовке очередного тома многотомного издания «Флора лишайников Беларуси».

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (грант № B17PM-019).

Acknowledgements. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant no. B17RM-019).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Lücking, R. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – approaching one thousand genera / R. Lücking, B. P. Hodkinson, S. D. Leavitt // *Bryologist*. – 2017. – Vol. 119, N 4. – P. 361–416. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-119.4.361>
2. Tsurukau, A. The genus *Lepraria* (*Stereocaulaceae*, *lichenized Ascomycota*) in Belarus / A. Tsurukau, V. Golubkov, P. Bely // *Folia Cryptog. Estonica*. – 2016. – Vol. 53. – P. 43–50. <https://doi.org/10.12697/fce.2016.53.06>
3. Orange, A. *Microchemical methods for the identification of lichens* / A. Orange, P. W. James, F. J. White. – London : British Lichen Society, 2001. – 101 p.
4. Saag, L. World survey of the genus *Lepraria* (*Stereocaulaceae*, *lichenized Ascomycota*) / L. Saag, A. Saag, T. Randlane // *Lichenologist*. – 2009. – Vol. 41, N 1. – P. 25–60. <https://doi.org/10.1017/s0024282909007993>
5. Цуриков, А. Г. Ревизия лишайников рода *Lepraria* в Беларуси: *L. eburnea*, *L. ecorticata* и *L. vouauxii* / А. Г. Цуриков, В. В. Голубков, П. Н. Белый // *Вестн. БГУ. Сер. 2: Химия. Биология. География*. – 2016. – № 2. – С. 55–59.
6. Цуриков, А. Г. Ревизия лишайников рода *Lepraria* в Беларуси: *L. elobata* и *L. finkii* / А. Г. Цуриков, В. В. Голубков, П. Н. Белый // *Вестн. Віцеб. дзярж. ун-та*. – 2016. – № 2 (91). – С. 22–27.
7. Цуриков, А. Г. Ревизия лишайников рода *Lepraria* в Беларуси: *Lepraria incana* / А. Г. Цуриков, В. В. Голубков, П. Н. Белый // *Вестн. Гродз. дзярж. ун-та імя Я. Купалы. Сер. 5: Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія*. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 133–140.
8. Цуриков, А. Г. Ревизия лишайников рода *Lepraria* в Беларуси: *Lepraria jackii* и *L. rigidula* / А. Г. Цуриков, В. В. Голубков, П. Н. Белый // *Вестн. Магіл. дзярж. ун-та імя А. А. Куляшова. Сер. В: Прыродазн. навукі : матэматыка, фізіка, біялогія*. – 2016. – № 1 (47). – С. 91–97.
9. Golubkov, V. V. A contribution to the lichen biota of Belarus / V. V. Golubkov, M. Kukwa // *Acta Mycol*. – 2006. – Vol. 42, N 1. – P. 155–164. <https://doi.org/10.5586/am.2006.019>

References

1. Lücking R., Hodkinson B. P., Leavitt S. D. The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – approaching one thousand genera. *Bryologist*, 2017, vol. 119, no. 4, pp. 361–416. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-119.4.361>
2. Tsurukau A., Golubkov V., Bely P. The genus *Lepraria* (*Stereocaulaceae*, *lichenized Ascomycota*) in Belarus. *Folia Cryptogamica Estonica*, 2016, vol. 53, pp. 43–50. <https://doi.org/10.12697/fce.2016.53.06>
3. Orange A., James P. W., White F. J. *Microchemical methods for the identification of lichens*. London, British Lichen Society, 2001. 101 p.
4. Saag L., Saag A., Randlane T. World survey of the genus *Lepraria* (*Stereocaulaceae*, *lichenized Ascomycota*). *Lichenologist*, 2009, vol. 41, no. 1, pp. 25–60. <https://doi.org/10.1017/s0024282909007993>
5. Tsurikov A. G., Golubkov V. V., Bely P. N. Revision of lichens of the genus *Lepraria* in Belarus: *L. eburnea*, *L. ecorticata* and *L. vouauxii*. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2: Chemistry. Biology. Geography], 2016, no. 2, pp. 55–59 (in Russian).
6. Tsurikov A. G., Golubkov V. V., Bely P. N. Revision of lichens of the genus *Lepraria* in Belarus: *L. elobata* and *L. finkii*. *Vestnik Vitsebskaga dzyarzhhaunaga universiteta* [Bulletin of the Vitebsk State University], 2016, no. 2 (91), pp. 22–27 (in Russian).
7. Tsurikov A. G., Golubkov V. V., Bely P. N. Revision of lichens of the genus *Lepraria* in Belarus: *Lepraria incana*. *Vestnik Grodzenskaga dzyarzhhaunaga universiteta imya Yanki Kupaly. Seryya 5: Ekanomika. Satsyyalohiya. Biyalohiya* [Vestnik of Yanka Kupala State University of Grodno. Series 5: Economics. Sociology. Biology], 2016, vol. 6, no. 2, pp. 133–140 (in Russian).
8. Tsurikov A. G., Golubkov V. V., Bely P. N. Revision of lichens of the genus *Lepraria* in Belarus: *Lepraria jackii* and *L. rigidula*. *Vestnik Magileuskaga dzyarzhhaunaga universiteta imya A. A. Kulyashova. Seryya B: Pryrodaznauchyya navuki: matematyka, fizika, biyalohiya* [Bulletin of the Mogilev State University named after A. A. Kuleshov. Series B: Natural sciences: mathematics, physics, biology], 2016, no. 1 (47), pp. 91–97 (in Russian).
9. Golubkov V. V., Kukwa M. A contribution to the lichen biota of Belarus. *Acta Mycologica*, 2006, vol. 42, no. 1, pp. 155–164. <https://doi.org/10.5586/am.2006.019>

Информация об авторе

Яцына Александр Петрович – 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: lihenologs84@mail.ru

Information about the author

Aleksander P. Yatsyna – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaja Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lihenologs84@mail.ru

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

УДК 634.739.3:736(476)
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-48-59>

Поступила в редакцию 05.04.2018
Received 05.04.2018

**Ж. А. Рупасова¹, А. П. Яковлев¹, С. П. Антохина¹, М. Н. Вашкевич¹,
А. А. Ярошук¹, З. М. Алешенкова², Э. И. Коломиец²**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ВИРГИНИЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ ГОЛУБИКИ НА ВЫРАБОТАННОМ ТОРФЯНОМ МЕСТОРОЖДЕНИИ ПРИ ВНЕСЕНИИ МИНЕРАЛЬНЫХ И МИКРОБНЫХ УДОБРЕНИЙ

Аннотация. Сравнительное исследование на рекультивируемом участке торфяной выработки в Докшицком районе Витебской области биометрических характеристик текущего прироста вегетативных органов одно- и двулетних растений сортов *Northland* и *Denise Blue* голубики высокорослой на фоне внесения полного минерального и микробных удобрений – ПолиФунКуР и МаКлоР в концентрации 10 и 50% – показало выраженное стимулирующее действие испытываемых агроприемов на их развитие. В первый год внесения удобрений наименьшая эффективность установлена для $N_{16}P_{16}K_{16}$, уступавшая таковой препарата МаКлоР в 1,1–1,5 раза, результативность которого, в зависимости от сортовой принадлежности растений и типа побегов, возрастала с увеличением его концентрации в 1,2–1,4 раза. При отсутствии сортовых различий в степени позитивного влияния микробного удобрения МаКлоР на развитие вегетативных побегов эффективность его действия, как и $N_{16}P_{16}K_{16}$, на развитие генеративных побегов у сорта *Denise Blue* превышала таковую у сорта *Northland* в 4,2–4,8 раза.

Позитивное влияние минеральных и микробных удобрений на текущий прирост вегетативных органов двулетних растений обоих сортов голубики существенно уступало таковому однолетним на фоне сохранения его прогрессирующего усиления по мере увеличения концентрации микробного удобрения МаКлоР. При этом результативность действия $N_{16}P_{16}K_{16}$ на развитие побегов у сорта *Northland*, в зависимости от их типа, превышала таковую микробного удобрения МаКлоР в 1,2–1,9 раза, у сорта *Denise Blue* – в 1,3–2,6 раза. Показано, что на фоне отсутствия выраженных сортовых различий в степени стимулирующего влияния удобрений на развитие вегетативных побегов эффективность их действия на развитие генеративных побегов, в отличие от однолетних растений, у сорта *Denise Blue* уступала таковой у сорта *Northland* в 1,7–2,3 раза.

Ключевые слова: полное минеральное удобрение, микробные удобрения, голубика, сорта, вегетативные побеги, генеративные побеги, листья, текущий прирост

Для цитирования: Особенности роста виргинильных растений голубики на выработанном торфяном месторождении при внесении минеральных и микробных удобрений / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 48–59. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-48-59>

**Zh. A. Rupasova¹, A. P. Yakovlev¹, S. P. Antokhina¹, M. N. Vashkevich¹, A. A. Yaroshuk¹,
Z. M. Aleshchenkova², E. I. Kolomiets²**

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

²Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

PECULIARITIES OF THE GROWTH OF VIRGIN BLUEBERRY PLANTS ON THE DEVELOPED PEAT DEPOSIT WITH THE APPLICATION OF MINERAL AND MICROBIAL FERTILIZERS

Abstract. The results of comparative study of current increment of vegetative sphere yearling and biennial of plants of a half-highbush blueberry *Northland* and *Denise Blue* at fertilizer application NPK-compound ($N_{16}P_{16}K_{16}$) and of some microbial specimen – a liquid product of MaKloR in concentration of 10 and 50 % in test crop on recultivated cutover peatlands in article are resulted. It is positioned that tested agricultural methods have rendered the expressed promoting effect on formation of a current increment of vegetative sphere of plants of a blueberry. In the first year of fertilization the least efficacy is positioned for a variant with $N_{16}P_{16}K_{16}$ which conceded to a drug of MaKloR in 1.1–1.5 times. Its productivity increased with concentration augmentation in 1.2–1.4 times, depending on a varietal accessory of plants and phylum of shoots. In the absence of varietal differences in degree of positive influence of microbial fertilizing of MaKloR on development of vegetative propagules, efficacy of its action, as well as $N_{16}P_{16}K_{16}$, on development of generative propagules, in variety *Denise Blue* exceeded for kind *Northland* in 4.2–4.8 times.

Positive influence of mineral and microbial fertilizing's on a current increment of vegetative sphere of biennial plants of both variety of a blueberry essentially conceded to that annotinous, against conservation of its progressing magnification

in process of strengthening of microbial fertilising of MaKloR. Thus productivity of action $N_{16}P_{16}K_{16}$ on development of propagules in variety *Northland*, depending on their phylum, exceeded that microbial fertilising of MaKloR in 1.2–1.9 times, at variety *Denise Blue* – in 1.3–2.6 times. It is shown that against absence of the expressed varietal distinctions in degree of stimulating influence of fertilizings on development of vegetative shoots, efficacy of their action on development of generative shoots, unlike annual plants, at kind *Denise Blue* conceded that for kind *Northland* in 1.7–2.3 times.

Keywords: NPK-compound, microbial fertilizing, blueberry, variety, vegetative shoot, reproductive shoot, leafage, current increment

For citation: Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Antohina S. P., Vashkevich M. N., Yaroshuk A. A., Aleshchenkova Z. M., Kolomiets E. I. Peculiarities of the growth of virgin blueberry plants on the developed peat deposit with the application of mineral and microbial fertilizers. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 48–59 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-4-48-59>

Введение. Важнейшим элементом технологии возделывания представителей рода *Vaccinium* на рекультивируемых площадях выработанных торфяных месторождений севера Беларуси является оптимизация режима их минерального питания, направленная на максимально полную реализацию потенциала развития в специфических условиях существования [1]. Однако, как показал практический опыт, повышение плодородия этих земель с помощью средств химизации недостаточно эффективно, поскольку связано со значительными затратами на приобретение и внесение дорогостоящих минеральных удобрений. Это увеличивает себестоимость конечной продукции и приводит к загрязнению окружающей среды токсичными соединениями. Наиболее перспективным представляется использование в фиторекультивационных целях микробно-растительных ассоциаций, способствующих активизации микробиологических и биохимических процессов в малоплодородном и сильноокислом остаточном слое торфяной залежи. При этом за счет использования микробных удобрений будет обеспечено получение экологически чистой, экспортно-ориентированной высоковитаминной ягодной продукции.

В настоящее время в Институте микробиологии НАН Беларуси в рамках ГНТП «Промышленные биотехнологии» уже создан ряд высокоэффективных микробных удобрений на основе ассоциативных азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий, положительно влияющих на развитие сельскохозяйственных культур [2, 3]. Вместе с тем до сих пор остается неизученным их влияние на развитие растений голубики в специфических условиях культивирования.

Цель работы – сравнительное исследование влияния полного минерального и двух видов микробных удобрений – МаКлоР и ПолиФунКуР – на формирование текущего прироста вегетативных органов виргинильных (одно- и двулетних растений) межвидовых гибридов голубики (*V. angustifolium* x *Vaccinium corymbosum*) – *Northland* и *Denise Blue*.

Объекты и методы исследования. Исследование проведено в 2016–2017 гг. в условиях опытной культуры на рекультивируемом участке торфяной выработки в Докшицком районе Витебской области. Полевые опыты были заложены на участке сильноокислого (pH_{KCl} 2,8), малоплодородного (содержание P_2O_5 и K_2O не более 12–15 и 11–21 мг/кг соответственно), полностью лишённого растительности остаточного слоя донного торфа средней степени разложения, представленного сфагново-древесно-пушицевой ассоциацией. Схема опыта включала 4 варианта в трехкратной повторности: 1 – контроль, без внесения удобрений; 2 – луночное внесение в мае NPK 16:16:16 кг/га д. в., или 5 г/раст.; 3 – луночное внесение предыдущей осенью удобрения ПолиФунКуР из расчета 2 т/га, или 0,6 г/раст., в сочетании с внесением в мае и июне 0,2 л 10 %-ного раствора жидкого удобрения МаКлоР; 4 – луночное внесение предыдущей осенью удобрения ПолиФунКуР из расчета 2 т/га, или 0,6 г/раст., в сочетании с внесением в мае и июне 0,2 л 50 %-ного раствора жидкого удобрения МаКлоР.

С целью получения информации о биометрических характеристиках текущего прироста вегетативных органов опытных растений в конце вегетационного сезона в каждом варианте полевого опыта осуществляли подсчет и измерение длины новообразованных за сезон побегов формирования (вегетативных) и ветвления (генеративных), а также определяли количество и размерные параметры листовых пластинок по длине и ширине, которые использовали для вычисления индекса листа.

Данные статистически обрабатывали с использованием программы Excel.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследований установлено, что в первый год внесения удобрений однолетние растения сорта *Northland*, в зависимости от уровня минерального питания, образовывали за сезон в среднем от 3–4 до 11–12 побегов формирования (вегетативных) со средней длиной от 7 до 22 см при среднем количестве листьев на одном побеге от 8 до 19 шт. (табл. 1). Степень же облиственности данных побегов, определяемая количеством листьев, приходящимся на 10 см их длины, варьировалась в рамках эксперимента от 9 до 12 шт. Размеры листовых пластинок у растений данного сорта составляли в среднем от 16 до 40 мм в длину и от 11 до 27 мм в ширину при относительном постоянстве индекса листа, характеризуемого соотношением данных параметров, в интервале значений 1,5–1,6. При этом средняя площадь листовых пластинок вегетативных побегов изменялась по вариантам опыта в интервале от 172 до 904 мм².

Количество побегов ветвления (генеративных), сформировавшихся к концу вегетационного периода 2016 г. на одном растении сорта *Northland*, варьировалось по вариантам опыта в диапазоне от 2–3 до 9–10 шт. (табл. 1). Межвариантные различия средней длины побегов, как и среднего количества образованных на них листьев при диапазонах варьирования соответственно от 2,4 до 4,3 см и от 4 до 7 шт., оказались не столь выраженными, как у побегов формирования, что отмечалось нами в более ранних исследованиях [1, 4]. Очевидно, это биологическая особенность растений рода *Vaccinium*. Однако степень облиственности побегов ветвления во всех вариантах опыта была примерно вдвое выше, чем побегов формирования, и изменялась от 17,4 в варианте с внесением N₁₆P₁₆K₁₆ до 24,2 в контроле. Вместе с тем средние размеры листовых пластинок на побегах ветвления заметно уступали таковым на побегах формирования при изменении их длины в рамках эксперимента от 14 до 22 мм, ширины – от 9 до 15 мм. Диапазон варьирования индекса листа у побегов ветвления был сопоставим с таковым у побегов формирования и составлял 1,5–1,7. При этом средняя площадь листовых пластинок на побегах ветвления уступала таковой на побегах формирования и составляла 102–263 мм². Приведенные значения основных биометрических характеристик вегетативных органов сорта *Northland* в целом соответствовали полученным нами для данного таксона в более ранних исследованиях [5].

Как следует из табл. 1, количество новообразованных побегов формирования на одном растении сорта *Denise Blue* варьировалось в рамках эксперимента от 6 до 16 шт. при средней длине 8–26 см, количестве листьев от 10 до 23 шт. и степени их облиственности от 9 до 12 шт. на 10 см длины. Размерные параметры листовых пластинок изменялись от 17 до 49 мм в длину и от 9 до 25 мм в ширину при более высоких, чем у сорта *Northland*, значениях листового индекса (в пределах 2,0–2,1). При этом средняя площадь листовых пластинок варьировалась по вариантам опыта в интервале от 177 до 908 мм². Количество новообразованных побегов ветвления у растений сорта *Denise Blue* изменялось от 2 до 14 шт. при средней длине 1,0–4,4 см, количестве листьев на них от 4 до 7 шт. и степени облиственности от 13 до 44 шт. на 10 см длины. Размерные параметры листовых пластинок изменялись от 10 до 30 мм в длину и от 5 до 14 мм в ширину при значениях листового индекса в пределах 2,0–2,2. Диапазон же варьирования средней площади листовых пластинок составлял 68–311 мм².

Как следует из табл. 2, уже в первый год внесения удобрений у обоих модельных сортов голубики обозначились существенные различия с контролем биометрических характеристик текущего прироста вегетативных и генеративных побегов. При этом использование микробных удобрений оказало на них более сильное позитивное влияние, нежели внесение N₁₆P₁₆K₁₆. Вместе с тем было установлено, что ответная реакция сорта *Denise Blue* на испытываемые агроприемы в плане формирования текущего прироста вегетативных органов растений была более выраженной, чем у сорта *Northland*. У последнего во всех вариантах опыта, особенно на фоне более высокой концентрации микробного удобрения МаКлоР, наблюдалось усиление новообразования побегов формирования и в большей степени побегов ветвления, приведшее к увеличению их количества по сравнению с контролем на 141–235 и 192–292 % соответственно. В вариантах опыта с внесением микробных удобрений это сопровождалось достоверным увеличением на 145–222 % средней длины вегетативных побегов и на 126–146 % количества сформированных на них листьев при увеличении размеров последних на 133–155 % в длину и на 135–161 % в ширину по сравнению с контролем. При этом внесение N₁₆P₁₆K₁₆ не оказало значимого влияния ни на одну

Таблица 1. Биометрические показатели текущего прироста вегетативных органов однолетних растений голубики высокорослой в первый год внесения удобрений в вариантах полевого опыта в конце вегетационного периода
 Table 1. Biometric indices of the current growth of vegetative organs of annual plants of blueberry varieties in the first year of application of fertilizers in field experiment options at the end of the growing season

Вариант опыта	Сорт <i>Northland</i>															
	Побеги формирования															
	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	
1	3,4 ± 1,5	—	6,9 ± 3,3	—	7,7 ± 2,2	—	12,4 ± 4,7	—	15,8 ± 3,8	—	10,5 ± 2,4	—	1,5 ± 0,2	—	172,4 ± 15,6	—
2	4,8 ± 1,3	0,71	13,6 ± 5,0	1,12	13,7 ± 3,3	1,51	10,9 ± 3,7	0,25	23,1 ± 4,6	1,39	15,1 ± 4,2	0,95	1,6 ± 0,2	0,35	248,8 ± 17,8	3,23*
3	8,2 ± 1,8	2,05*	19,9 ± 5,0	2,17*	17,4 ± 3,8	2,21*	9,5 ± 3,4	0,50	36,8 ± 9,1	2,13*	24,7 ± 6,4	2,08*	1,5 ± 0,1	0	610,0 ± 44,1	9,35*
4	11,4 ± 3,5	2,10*	22,2 ± 5,7	2,32*	18,9 ± 3,2	2,88*	8,9 ± 2,3	0,67	40,3 ± 9,8	2,33*	27,4 ± 6,7	2,37*	1,5 ± 0,2	0	904,2 ± 51,7	13,55*
	Побеги ветвления															
Вариант опыта	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t
	1	2,4 ± 1,1	—	2,4 ± 0,8	—	4,5 ± 1,2	—	24,2 ± 2,8	—	13,9 ± 2,3	—	8,7 ± 1,4	—	1,7 ± 0,3	—	101,5 ± 9,8
2	8,2 ± 2,5	2,12*	3,9 ± 1,0	1,17	6,3 ± 1,1	1,11	17,4 ± 2,0	1,98	17,8 ± 2,3	1,20	10,8 ± 2,6	0,71	1,6 ± 0,2	0,28	152,2 ± 15,0	2,83*
3	7,0 ± 1,8	2,18*	4,2 ± 1,8	0,91	7,1 ± 2,8	0,85	19,2 ± 2,6	1,31	21,9 ± 3,0	2,12*	13,3 ± 2,8	1,47	1,7 ± 0,3	0	230,0 ± 22,7	5,20*
4	9,4 ± 3,3	2,01*	4,3 ± 1,1	1,40	7,1 ± 1,8	1,20	18,0 ± 2,1	1,77	21,9 ± 3,1	2,07*	14,9 ± 2,9	1,93	1,5 ± 0,2	0,55	262,8 ± 19,5	10,16*
	Сорт <i>Denise Blue</i>															
Вариант опыта	Побеги формирования															
	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t
1	5,8 ± 1,5	—	7,9 ± 2,4	—	9,7 ± 2,6	—	12,1 ± 2,3	—	17,2 ± 4,7	—	8,5 ± 2,3	—	2,1 ± 0,3	—	176,5 ± 29,3	—
2	10,6 ± 1,5	2,26*	18,8 ± 3,3	2,67*	18,3 ± 3,0	2,17*	10,3 ± 4,5	—0,36	41,7 ± 6,8	2,96*	20,7 ± 3,7	2,80*	2,0 ± 0,3	0,24	563,2 ± 33,1	8,75*
3	13,0 ± 1,4	3,51*	19,9 ± 4,0	2,38*	19,8 ± 3,1	2,35*	10,4 ± 3,2	—0,43	42,1 ± 7,1	2,92*	20,9 ± 4,7	2,37*	2,0 ± 0,2	0,28	679,9 ± 53,1	8,30*
4	15,6 ± 1,6	4,47*	25,5 ± 4,4	3,51*	22,8 ± 4,8	2,40*	9,2 ± 2,3	—0,89	49,3 ± 9,0	3,16*	24,5 ± 4,2	3,34*	2,0 ± 0,2	0,28	907,9 ± 75,6	9,02*
	Побеги ветвления															
Вариант опыта	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t
	1	1,6 ± 0,5	—	1,0 ± 0,3	—	3,9 ± 1,0	—	43,6 ± 7,7	—	10,0 ± 2,7	—	5,0 ± 1,3	—	2,0 ± 0,3	—	67,5 ± 13,8
2	11,6 ± 2,6	3,78*	3,4 ± 1,1	2,10*	5,0 ± 1,5	0,61	19,8 ± 8,6	2,10*	22,7 ± 4,0	2,63*	10,8 ± 2,3	2,20*	2,1 ± 0,4	0,20	145,2 ± 34,3	2,10*
3	13,0 ± 3,9	2,90*	3,6 ± 1,2	2,10*	4,3 ± 1,9	0,19	13,3 ± 6,1	3,08*	25,3 ± 5,8	2,39*	12,5 ± 2,9	2,36*	2,1 ± 0,4	0,0	216,3 ± 35,2	3,94*
4	14,4 ± 3,8	3,34*	4,4 ± 1,2	2,75*	6,5 ± 2,3	1,04	15,6 ± 5,9	2,89*	29,6 ± 4,5	3,75*	13,9 ± 2,0	3,73*	2,2 ± 0,3	0,47	311,4 ± 27,8	7,86*

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

Т а б л и ц а 2. Относительные различия с контролем полевых биометрических показателей текущего прироста вегетативных органов однолетних растений голубики в вариантах полевого опыта с внесением удобрений в конце вегетационного периода, %

Т а б л и ц а 2. Relative differences with the control of biometric indicators of the current increment in the vegetative organs of annual blueberry plants in field experiment options with fertilization at the end of the growing season, %

Вариант опыта	Сорт <i>Northland</i>									
	Побеги формирования									
	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²	Совокупность позитивных эффектов		
2	—	—	—	—	—	—	+44,3	+44,3		
3	+141,2	+144,9	+126,0	—	+132,9	+135,2	+253,8	+934,0		
4	+235,3	+221,7	+145,5	—	+155,1	+161,0	+424,5	+1343,1		
	Побеги ветвления									
Вариант опыта	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²	Совокупность позитивных эффектов		
2	+241,7	—	—	—	—	—	+50,0	+291,7		
3	+191,7	—	—	—	+57,6	—	+126,6	+375,9		
4	+291,7	—	—	—	+57,6	—	+158,9	+508,2		
	Сорт <i>Denise Blue</i>									
	Побеги формирования									
	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²	Совокупность позитивных эффектов		
2	+82,8	+138,0	+88,7	—	+142,4	+143,5	+219,1	+814,5		
3	+124,1	+151,9	+104,1	—	+144,8	+145,9	+285,2	+956,0		
4	+169,0	+222,8	+135,1	—	+186,6	+188,2	+414,4	+1316,1		
	Побеги ветвления									
Вариант опыта	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²	Совокупность позитивных эффектов		
2	+625,0	+240,0	—	-54,6	+127,0	+116,0	+115,1	+1168,5		
3	+712,5	+260,0	—	-69,5	+153,0	+150,0	+220,4	+1426,4		
4	+800,0	+340,0	—	-64,2	+196,0	+178,0	+361,3	+1811,1		

Пр и м е ч а н и е. Прочерк означает отсутствие статистически значимых различий по сравнению с контролем при $p > 0,05$ (по t -критерию Стьюдента).

из исследуемых характеристик данных побегов, за исключением средней площади листовых пластинок, для которой было показано увеличение на 44–425 % во всех без исключения вариантах опыта, что свидетельствует об увеличении фотосинтезирующей поверхности вегетативных побегов и может рассматриваться как позитивное явление. Что касается генеративных побегов сорта *Northland*, то влияние удобрений на их развитие было менее выраженным, чем у вегетативных побегов. Так, на фоне внесения и минеральных, и микробных удобрений, кроме показанной выше активизации новообразования побегов ветвления в обоих вариантах опыта с использованием препарата МаКлоР, имело место всего лишь одинаковое по относительным размерам удлинение на 58 % сформированных на них листьев. Наряду с этим было отмечено менее выраженное, чем у побегов формирования, но все же достоверное увеличение во всех вариантах опыта средней площади листовых пластинок на 50–159 % по сравнению с контролем.

В отличие от сорта *Northland*, у сорта *Denise Blue* в вариантах опыта с внесением удобрений новообразование и увеличение средней длины побегов ветвления, напротив, оказались более значительными, нежели у побегов формирования, что указывает на явную сортоспецифичность ответной реакции растений голубики на испытываемые агроприемы.

К примеру, если увеличение у данного сорта количества новообразованных вегетативных побегов относительно контроля происходило в сходных с сортом *Northland* пределах (на 83–169 %), то количество генеративных побегов возрастало на 625–800 % (табл. 2), что указывало на потенциальное усиление репродуктивной функции растений данного сорта под влиянием удобрений. Наряду с этим у сорта *Denise Blue* во всех вариантах опыта с внесением удобрений имело место увеличение средней длины как побегов формирования, так и побегов ветвления на 138–223 и 240–340 % соответственно.

Вместе с тем, как и у сорта *Northland*, увеличение за сезон количества листьев на вегетативных побегах происходило пропорционально удлинению последних, что обусловило отсутствие изменений степени их облиственности. Удлинение же генеративных побегов при отсутствии достоверных изменений количества образованных на них листьев способствовало снижению данного показателя на 55–70 % относительно контроля. У сорта *Denise Blue* на фоне используемых агроприемов как у побегов формирования, так и у побегов ветвления наблюдалось сходное увеличение размерных параметров листьев, составившее соответственно 142–187 и 127–196 % в длину и 144–188 и 116–178 % в ширину, без изменения листового индекса. Напомним, что у сорта *Northland* ни в одном варианте опыта не установлено достоверного влияния удобрений на ширину листовых пластинок на генеративных побегах, а при использовании полного минерального удобрения – также на длину и ширину листьев вегетативных побегов. Обращает на себя внимание сопоставимость у обоих модельных сортов голубики степени увеличения средней площади листовых пластинок на вегетативных побегах при внесении микробных удобрений при более выраженных изменениях данного параметра у сорта *Denise Blue* в варианте опыта с использованием $N_{16}P_{16}K_{16}$. Наряду с этим для данного сорта было показано примерно вдвое большее, чем у сорта *Northland*, увеличение площади листовых пластинок на генеративных побегах.

Сравнение в вариантах полевого опыта величины совокупного позитивного эффекта, представленного в табл. 2, показало, что наименее результативным в этом плане оказалось внесение полного минерального удобрения. Так, у однолетних растений сорта *Northland* не выявлено существенного влияния последнего на формирование и развитие вегетативных побегов, причем его эффективность в этом плане уступала таковой микробных удобрений, в зависимости от концентрации препарата МаКлоР, в 21–30 раз. Что касается генеративных побегов данного сорта, то подобный разрыв в степени влияния $N_{16}P_{16}K_{16}$ и микробных удобрений на их развитие оказался существенно меньшим – всего лишь в 1,3–1,7 раза.

Результативность позитивного воздействия полного минерального удобрения на исследуемые параметры текущего прироста обоих типов побегов и их листового аппарата у сорта *Denise Blue*, как и в предыдущем случае, уступала таковой микробных удобрений, в зависимости от концентрации препарата МаКлоР, в 1,2–1,6 раза. Обращает на себя внимание выявленное у обоих модельных сортов голубики усиление влияния микробного удобрения на формирование текущего прироста их вегетативных органов в 1,3–1,4 раза при увеличении его концентрации. По-

казано также, что на фоне отсутствия сортовых различий в степени позитивного влияния препарата МаКлоР на развитие вегетативных побегов его позитивное действие на развитие генеративных побегов, как, впрочем, и полного минерального удобрения, у сорта *Denise Blue* превосходило таковое у сорта *Northland* в 3,6–4,0 раза.

На второй год внесения удобрений (2017) двулетние растения сорта *Northland*, в зависимости от уровня минерального питания, образовывали в среднем несколько большее, чем однолетние, количество вегетативных побегов – от 4–5 до 18–19 шт. с более высокими показателями средней длины (от 12 до 35 см) и большим количеством листьев на одном побеге – от 18 до 25 шт. (табл. 3). Степень же облиственности данных побегов была сопоставима с установленной для однолетних растений и варьировалась в рамках эксперимента от 7 до 16 шт. на 10 см их длины. Средние размеры листовых пластинок у двулетних растений сорта *Northland* также оказались значительно большими, нежели у однолетних, и изменялись в среднем от 35 до 75 мм в длину и от 13 до 29 мм в ширину при относительном постоянстве индекса листа, характеризуемого соотношением данных параметров, в интервале значений от 2,7 до 2,9. При этом средняя площадь листовых пластинок также оказалась большей в 1,3–5,6 раза, особенно на фоне внесения $N_{16}P_{16}K_{16}$, и варьировалась в рамках эксперимента от 483 до 1465 мм².

Среднее количество генеративных побегов, сформировавшихся к концу вегетационного сезона 2017 г. на одном двулетнем растении сорта *Northland*, также превышало таковое у однолетних растений и изменялось в диапазоне от 3 до 21 шт. (табл. 3). При этом, как и у однолетних растений, межвариантные различия средней длины побегов, а также среднего количества образованных на них листьев при диапазонах варьирования по вариантам опыта соответственно от 2,2 до 6,5 см и от 4 до 15 шт. оказались менее выраженными, нежели у вегетативных побегов. Однако степень облиственности побегов ветвления во всех вариантах опыта была в 1,2–3,8 раза выше, чем у побегов формирования, и изменялась в сходном с однолетними растениями диапазоне значений – от 15 до 26 шт. на 10 см длины побега. Средние размеры листовых пластинок на побегах ветвления несколько уступали таковым на побегах формирования при изменении их длины в рамках эксперимента от 41 до 54 мм и ширины от 11 до 19 мм. При этом диапазон варьирования индекса листа у побегов ветвления был сопоставим с таковым у побегов формирования и составлял 2,6–3,2. Значительно большие, чем у однолетних растений, размеры листовых пластинок обусловили в 3,1–7,5 раза более высокие значения их средней площади, особенно в варианте опыта с внесением полного минерального удобрения.

Как следует из табл. 3, среднее количество образованных за сезон побегов формирования на одном двулетнем растении сорта *Denise Blue* варьировалось в рамках эксперимента в сходных с однолетними растениями пределах – от 5 до 20 шт. при сопоставимых с ними показателях средней длины (9–32 см), количества листьев (12–25 шт.) и степени облиственности (9–13 шт. на 10 см длины). Вместе с тем размерные параметры листовых пластинок несколько превышали таковые у однолетних растений и изменялись от 29 до 54 мм в длину и от 15 до 26 мм в ширину при сходных с ними значениях листового индекса (2,0–2,2). При этом средняя площадь листовых пластинок в 1,2–2,9 раза превышала таковую у однолетних растений и варьировалась по вариантам опыта в интервале 508,5–1480,3 мм². Количество образованных побегов ветвления у двулетних растений сорта *Denise Blue* было сопоставимо с таковым у однолетних растений и изменялось от 5 до 16 шт. при больших значениях их средней длины (4,6–6,6 см) и большем количестве листьев (6–10 шт.), что обусловило в вариантах опыта с внесением удобрений сходную степень облиственности данных побегов (15–22 шт. на 10 см длины). Размерные параметры листовых пластинок, как и на вегетативных побегах, существенно превышали таковые у однолетних растений и изменялись от 41 до 58 мм в длину и от 20 до 26 мм в ширину при значениях листового индекса в пределах 1,9–2,2. При этом средняя площадь листовых пластинок в 2,1–9,6 раза превышала таковую у однолетних растений, особенно при внесении $N_{16}P_{16}K_{16}$, и варьировалась в рамках эксперимента в диапазоне от 328,5 до 1389,0 мм² (см. табл. 2).

Как и у однолетних, у двулетних растений обоих сортов голубики внесение удобрений оказало существенное стимулирующее действие на формирование текущего прироста вегетативных и генеративных побегов на фоне выраженных сортовых и межвариантных различий степени данного влияния на его основные характеристики (табл. 4).

Таблица 3. Биометрические показатели текущего прироста вегетативных органов двулетних растений голубики высокорослой во второй год внесения удобрений в вариантах полевого опыта в конце вегетационного периода
 Table 3. Biometric indices of the current increment of vegetative organs of biennial plants of blueberry varieties in the second year of application of fertilizers in field experience at the end of the growing season

Вариант опыта	Сорт Northland															
	Побеги формирования															
	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	
1	4,8 ± 1,2	—	12,0 ± 2,2	—	18,0 ± 2,6	—	15,6 ± 4,8	—	34,9 ± 7,0	—	13,1 ± 2,4	—	2,9 ± 1,3	—	482,9 ± 17,4	—
2	11,9 ± 3,1	2,14*	34,9 ± 5,7	3,75*	24,0 ± 3,2	2,53*	6,8 ± 0,6	2,82*	75,4 ± 10,5	2,87*	28,6 ± 3,9	2,68*	2,8 ± 1,1	0,06	1465,1 ± 50,9	18,3*
3	15,6 ± 3,5	2,92*	29,8 ± 4,1	3,83*	23,0 ± 4,2	2,45*	7,6 ± 1,4	2,60*	50,6 ± 5,1	2,26*	19,1 ± 3,4	2,14*	2,7 ± 0,8	0,13	1066,5 ± 41,7	12,9*
4	18,7 ± 4,3	3,11*	24,7 ± 4,7	2,45*	25,0 ± 4,0	2,47*	10,2 ± 0,6	2,12*	52,9 ± 6,8	2,31*	20,4 ± 3,7	2,66*	2,7 ± 0,9	0,13	1165,4 ± 45,4	14,0*
	Побеги ветвления															
Вариант опыта	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t
	1	3,3 ± 0,8	—	2,2 ± 0,8	—	3,7 ± 1,2	—	18,1 ± 3,3	—	40,9 ± 11,7	—	11,3 ± 2,9	—	2,6 ± 0,8	—	357,4 ± 12,8
2	14,2 ± 3,5	3,04*	6,5 ± 1,1	2,64*	15,0 ± 2,6	2,38*	25,9 ± 3,5	2,78*	54,2 ± 16,9	2,29*	18,6 ± 5,4	2,37*	3,2 ± 1,4	0,37	1142,8 ± 58,6	13,1*
3	15,4 ± 4,7	2,54*	3,7 ± 0,5	2,15*	5,7 ± 0,5	2,04*	15,3 ± 2,1	0,72	45,0 ± 16,8	0,09	14,8 ± 3,7	2,03*	3,2 ± 1,2	0,42	703,1 ± 31,2	10,3*
4	21,2 ± 5,8	3,06*	4,9 ± 0,2	2,66*	8,0 ± 1,0	2,75*	20,1 ± 9,8	0,19	42,8 ± 11,8	0,05	16,5 ± 5,9	2,09*	2,9 ± 0,7	0,28	851,3 ± 47,9	10,0*
	Сорт Denise Blue															
Вариант опыта	Побеги формирования															
	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t
1	5,4 ± 1,7	—	9,4 ± 3,1	—	11,9 ± 4,3	—	12,7 ± 1,4	—	29,3 ± 8,0	—	15,0 ± 3,9	—	2,0 ± 0,3	—	508,5 ± 34,2	—
2	10,8 ± 2,0	2,06*	31,5 ± 9,5	2,21*	25,3 ± 4,7	2,68*	8,5 ± 1,9	-2,28*	53,3 ± 9,6	2,61*	25,9 ± 3,8	2,39*	2,1 ± 0,3	0,24	1362,0 ± 63,5	11,8*
3	17,0 ± 4,9	2,24*	21,2 ± 3,0	2,54*	16,8 ± 2,4	2,33*	8,4 ± 1,8	-2,35*	46,5 ± 4,7	2,46*	22,5 ± 2,7	2,23*	2,1 ± 0,3	0,24	784,0 ± 21,9	6,8*
4	20,4 ± 3,7	2,90*	23,2 ± 2,9	2,63*	20,9 ± 2,7	2,41*	9,4 ± 1,3	-2,13*	53,9 ± 9,2	2,02*	24,3 ± 2,5	2,56*	2,2 ± 0,3	0,47	1480,3 ± 64,5	13,3*
	Побеги ветвления															
Вариант опыта	К-во побегов, шт.		Длина побегов, см		К-во листьев, шт.		Степень облиственности		Длина листа (d), мм		Ширина листа (l), мм		Индекс листа (d/l)		Площадь листа, мм ²	
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	t
	1	4,8 ± 2,6	—	4,6 ± 1,5	—	5,5 ± 1,6	—	13,6 ± 2,4	—	42,1 ± 4,2	—	23,1 ± 1,9	—	1,9 ± 0,5	—	328,5 ± 19,7
2	13,8 ± 3,2	2,18*	6,6 ± 0,9	2,08*	9,5 ± 1,4	2,06*	17,5 ± 1,1	2,35*	56,8 ± 7,8	2,91*	26,4 ± 0,8	2,37*	2,2 ± 0,4	1,09	1389,0 ± 60,9	16,6*
3	14,6 ± 2,9	2,77*	5,8 ± 1,2	2,02*	5,9 ± 2,0	0,16	15,3 ± 2,8	1,09	41,2 ± 4,9	0,06	20,2 ± 3,3	0,66	2,1 ± 0,4	0,94	458,4 ± 7,5	6,16*
4	16,2 ± 3,1	2,99*	5,2 ± 0,6	2,27*	8,3 ± 1,2	2,03*	21,7 ± 2,6	3,27*	58,3 ± 7,2	3,02*	26,0 ± 0,8	2,32*	2,2 ± 0,5	0,99	748,0 ± 13,8	17,4*

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с эталонным объектом при $p > 0,05$ (по t-критерию Стьюдента).

Т а б л и ц а 4. Относительные различия с контролем биометрических показателей текущего прироста вегетативных органов двухлетних растений голубики в вариантах полевого опыта с внесением удобрений в конце вегетационного периода, %

Т а б л и ц а 4. Relative differences with the control of biometric indicators of the current increment in the vegetative organs of biennial blueberry plants in field experiment options with fertilization at the end of the growing season, %

Вариант опыта	Побеги формирования										Совокупность позитивных эффектов	
	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.		Степень облиственности
2	+147,9	+190,8	+33,3	-56,4	+116,0	+118,3	+203,4					+753,3
3	+225,0	+148,3	+27,8	-51,3	+45,0	+45,8	+120,9					+561,5
4	+289,6	+105,8	+38,9	-34,6	+51,6	+55,7	+141,3					+648,3
Вариант опыта	Побеги ветвления											Совокупность позитивных эффектов
	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²					
2	+330,3	+195,5	+305,4	+43,1	+32,5	+64,6	+219,8					+1191,2
3	+366,7	+68,2	+54,1	-	-	+31,0	+96,7					+616,7
4	+542,4	+122,7	+116,2	-	-	+46,0	+138,2					+965,5
Вариант опыта	Побеги формирования <td>Совокупность позитивных эффектов</td>											Совокупность позитивных эффектов
	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²					
2	+100,0	+235,1	+112,6	-33,1	+81,9	+72,7	+167,8					+737,0
3	+214,8	+125,5	+41,2	-33,9	+58,7	+50,0	+54,2					+510,5
4	+277,8	+146,8	+75,6	-26,0	+84,0	+62,0	+191,1					+811,3
Вариант опыта	Побеги ветвления											Совокупность позитивных эффектов
	К-во побегов, шт.	Длина побегов, см	К-во листьев, шт.	Степень облиственности	Длина листа, мм	Ширина листа, мм	Площадь листа, мм ²					
2	+187,5	+43,5	+72,7	+28,7	+34,9	+14,3	+322,8					+704,4
3	+204,2	+26,1	-	-	-	-	+39,5					+269,8
4	+237,5	+13,0	+50,9	+59,6	+38,5	+12,6	+127,7					+539,8

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

Усиление минерального питания растений сорта *Northland* способствовало активизации новообразования вегетативных побегов на 148–290 % относительно контроля при увеличении их средней длины на 106–191 % и количества листьев на 28–39 %. Из-за различий в темпах роста побегов и листьев имело место снижение степени их облиственности на 35–56 %. При этом позитивное влияние удобрений на ассимилирующие органы вегетативных побегов проявилось в увеличении средних размеров листовых пластинок на 52–116 % в длину и на 56–118 % в ширину при увеличении средней площади на 141–203 % относительно контроля. Подобные тенденции прослеживались и в характере влияния удобрений на развитие генеративных побегов данного сорта, количество которых возросло по сравнению с контролем на 330–542 % при увеличении их средней длины на 68–196 % и количества листьев на 54–305 %. Внесение микробных удобрений обусловило сопоставимость темпов роста побегов и ассимилирующих органов, что не вызвало изменений в степени их облиственности. Вместе с тем заметно слабее, чем у вегетативных побегов, проявилось влияние удобрений, особенно микробных, на размерные параметры листовых пластинок, средняя площадь которых увеличилась на 97–220 % относительно контроля.

У двулетних растений сорта *Denise Blue* в вариантах опыта с внесением удобрений выявлены сходные с таковыми у сорта *Northland* относительные размеры увеличения количества и средней длины новообразованных вегетативных побегов, варьировавшиеся в рамках эксперимента в диапазонах от 100 до 278 и от 126 до 235 % соответственно (табл. 4). При этом, как и у сорта *Northland*, из-за различий темпов роста данных побегов и формирования листьев также имело место снижение степени их облиственности на 26–34 %. Позитивное влияние удобрений на размерные параметры листьев вегетативных побегов проявилось в менее выраженном, чем у сорта *Northland*, увеличении их длины на 59–84 %, ширины – на 50–73, средней площади – на 54–191 % по сравнению с контролем.

Что касается генеративных побегов, то увеличение их количества в вариантах с внесением удобрений было сопоставимо с таковым вегетативных побегов и варьировалось в пределах от 188 до 238 %. Вместе с тем увеличение их длины по сравнению с контролем было не столь значительным, как у растений сорта *Northland*, и не превышало 13–44 %. Более высокие темпы образования на них листьев во 2-м и 4-м вариантах опыта обусловили увеличение степени облиственности данных побегов на 29 и 60 % соответственно. В этих же вариантах наблюдалось также достоверное увеличение размеров листовых пластинок относительно контроля на 35–39 % в длину и на 13–14 % в ширину при увеличении их средней площади на 323 и 128 %.

Общая же величина позитивного влияния удобрений на формирование текущего прироста вегетативных органов двулетних растений обоих модельных сортов голубики, за исключением побегов ветвления у сорта *Northland*, оказалась существенно меньшей, нежели у однолетних, на фоне сохранения ее прогрессирующего увеличения по мере повышения концентрации микробного удобрения (табл. 4). При этом, в отличие от однолетних, у двулетних растений сорта *Northland* результативность действия полного минерального удобрения на развитие вегетативных побегов превышала таковую микробного удобрения МаКлоР в 1,2–1,3 раза, генеративных – в 1,2–1,9 раза. У сорта *Denise Blue* подобное превышение наблюдалось лишь на фоне меньшей концентрации микробного удобрения: в первом случае – в 1,4 раза, во втором – в 1,3–2,6 раза. Следует отметить единичный случай, когда при использовании более высокой концентрации микробного удобрения эффективность его действия на развитие вегетативных побегов превышала таковую полного минерального удобрения в 1,1 раза.

На наш взгляд, усиление влияния полного минерального удобрения на формирование текущего прироста вегетативных органов виргинильных растений голубики на фоне ослабления действия микробного удобрения с увеличением их возраста может быть обусловлено разными механизмами и темпами включения доступных форм питательных элементов в процессы метаболизма растений у данных видов удобрений.

Заключение. В результате сравнительного исследования в опытной культуре на рекультивируемом участке торфяной выработки в Докшицком районе Витебской области биометрических

характеристик текущего прироста вегетативных органов одно- и двулетних растений сортов *Northland* и *Denise Blue* голубики высокорослой на фоне внесения полного минерального и микробных удобрений – ПолиФунКур и МаКлоР в концентрациях 10 и 50% – установлено, что испытываемые агроприемы оказали выраженное стимулирующее действие на развитие растений голубики. В первый год внесения удобрений наименьшая эффективность установлена для $N_{16}P_{16}K_{16}$, уступавшая таковой препарата МаКлоР в 1,1–1,5 раза, результативность которого, в зависимости от сортовой принадлежности растений и типа побегов, возрастала с увеличением его концентрации в 1,2–1,4 раза. При отсутствии сортовых различий в степени позитивного влияния микробного удобрения МаКлоР на развитие вегетативных побегов эффективность его действия, как и $N_{16}P_{16}K_{16}$, на развитие генеративных побегов, у сорта *Denise Blue* превышала таковую у сорта *Northland* в 4,2–4,8 раза.

Позитивное влияние минеральных и микробных удобрений на текущий прирост вегетативных органов двулетних растений обоих сортов голубики существенно уступало таковому у однолетних растений на фоне сохранения его прогрессирующего усиления по мере повышения концентрации микробного удобрения МаКлоР. При этом результативность действия $N_{16}P_{16}K_{16}$ на развитие побегов у сорта *Northland*, в зависимости от их типа, превышала таковую микробного удобрения МаКлоР в 1,2–1,9 раза, у сорта *Denise Blue* – в 1,3–2,6 раза. Показано, что на фоне отсутствия выраженных сортовых различий в степени стимулирующего влияния удобрений на развитие вегетативных побегов эффективность их действия на развитие генеративных побегов, в отличие от однолетних растений, у сорта *Denise Blue* уступала таковой у сорта *Northland* в 1,7–2,3 раза.

Список использованных источников

1. Рупасова, Ж. А. Фиторекультивация выбывших из промышленной эксплуатации торфяных месторождений севера Беларуси на основе культивирования ягодных растений семейства Ericaceae / Ж. А. Рупасова, А. П. Яковлев. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 282 с.
2. Алешенкова, З. М. Микробные удобрения для стимуляции роста и развития растений / З. М. Алешенкова // Наука и инновации. – 2015. – № 8 (150). – С. 66–67.
3. Микробный препарат АгроМик для стимуляции роста и развития тритикале / Е. А. Соловьева [и др.] // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / под ред. Э. И. Коломиец, А. Г. Лобанка (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2013. – С. 331–342.
4. Возделывание голубики на торфяных выработках Припятского Полесья: (физиолого-биохимические аспекты развития) / Ж. А. Рупасова [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 242 с.
5. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.] ; ред. В. И. Парфенов. – Минск : Беларус. навука, 2007. – 442 с.

References

1. Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P. *Rehabilitation of opencast peatlands on the basis of cultivation of berry plants of the family Ericaceae in conditions of the north of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 282 p. (in Russian).
2. Aleshchenkova Z. M. Microbial of fertilizing for stimulation of growth and development of plants. *Nauka i innovatsii* [Science and innovation], 2015, no. 8 (150), pp. 66–67 (in Russian).
3. Solov'eva E. A., Savchits T. L., Aleshchenkova Z. M., Bushtevich V. N. Microbial AgroMic preparation for stimulation of growth and development of triticale. *Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty : sbornik nauchnykh trudov* [Microbial biotechnologies fundamental and applied aspects: a collection of scientific papers]. Minsk, 2013, pp. 331–342 (in Russian).
4. Rupasova Zh. A., Yakovlev A. P., Reshetnikov V. N., Lishtvan I. I., Vasilevskaya T. I., Krinitskaya N. B. *Cultivation of blueberries on peat excavations of Pripjat' Polessye*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016. 242 p. (in Russian).
5. Rupasova Zh. A., Reshetnikov V. N., Ruban N. N., Ignatenko V. A., Yakovlev A. P., Pyatnitsa F. S. *The highbush blueberry. Assessment of adaptative potential at an introduction in the conditions of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2007. 442 p. (in Russian).

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

Антохина Светлана Павловна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: antohina_lana@mail.ru

Вашкевич Марина Николаевна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: marivashkevich@yandex.by

Ярошук Андрей Андреевич – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alrikdorey@mail.ru

Алещенкова Зинаида Михайловна – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Акад. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: aleschenkova@mbio.bas-net.by

Коломиец Эмилия Ивановна – член-корреспондент, д-р биол. наук, заведующий лабораторией, директор. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Акад. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by

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, Surganov 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, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: A.Yakovlev@cbg.org.by

Sviatlana P. Antokhina – Junior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: antohina_lana@mail.ru

Marina N. Vashkevich – Junior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: marivashkevich@yandex.by

Andrey A. Yaroshuk – Junior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alrikdorey@mail.ru

Zinaida M. Aleshchenkova – D. Sc. (Biol.), Chief researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aleschenkova@mbio.bas-net.by

Emiliya I. Kolomiets – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory, Director. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by

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

УДК 57.081.1:595.38.384(476.7)
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-60-71>

Поступила в редакцию 15.03.2018
Received 15.03.2018

К. Сливинска

Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ ДЛИННОПАЛОГО РАКА *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS* ЗАПАДНОГО ПОЛЕСЬЯ

Аннотация. Таксономический статус комплекса видов, относящихся к длиннопалому раку, до настоящего времени является предметом дискуссий. Вид характеризуется широкой морфологической изменчивостью, однако специальных работ по оценке этой изменчивости относительно немного. В данном исследовании на основе многомерного канонического дискриминантного анализа проведено сравнение 7 популяций раков из водоемов бассейнов Черного и Балтийского морей Западного Полесья. С помощью морфометрического анализа популяций выявлены отличия между ними, особенно по таким параметрам, как abdomen и карапакс. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения молекулярно-генетического изучения длиннопалого рака в Беларуси и сопредельных стран.

Ключевые слова: длиннопалый рак *Pontastacus leptodactylus*, морфометрия, многомерная статистика

Для цитирования: Сливинска, К. Сравнительный морфометрический анализ популяций длиннопалого рака *Pontastacus leptodactylus* Западного Полесья / К. Сливинска // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 60–71. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-60-71>

К. Śliwińska

*Scientific and Practical Center for Biological Resources of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

MORPHOMETRIC COMPARISON OF THE NARROW-CLAWED CRAYFISH *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS* POPULATIONS FROM THE WESTERN PART OF THE POLESYE REGION

Abstract. Taxonomical status of the narrow-clawed crayfish species complex is remained as unclear and it is still the subject of discussion. Despite many ambiguities, uniform data related to morphological diversity are scarce. Therefore, the main aim was to compare populations from the same type of waterbody and different drainage (Baltic and Black Sea) from the Polesye region with multivariate statistics in order to morphological diversity verification. The result indicates that variability of studied populations is expressed especially in abdomen and cephalothorax parameters which is comparable to other works on morphology of the European freshwater crayfish species. Some studies showed differences on morphology have been also confirmed at the genetic level. The information obtained in this study indicates that genetic analyses are necessary for understanding the diversity of this species.

Keywords: narrow-clawed crayfish *Pontastacus leptodactylus*, morphometry, multivariate statistics

For citation: Śliwińska K. Morphometric comparison of the narrow-clawed crayfish *Pontastacus leptodactylus* populations from the western part of the Polesye Region. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 60–71 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-60-71>

Введение. Длиннопалый рак является одним из 5 выделяемых видов десятиногих европейских раков и рассматривается как аборигенный для бассейнов Черного и Каспийского морей [1], а его распространение по всему европейскому континенту связано с человеческой деятельностью [2]. Таксономический статус длиннопалого рака пока недостаточно изучен как на видовом, так и на родовом уровне. К примеру, на основе морфологических и зоогеографических критериев было выделено 4 вида, относящихся к роду *Astacus* и подроду *Pontastacus* [3]. В рамках этого подрода М. С. Караман [4, 5] выделил 3 вида. Согласно новому подходу, предложенному С. Я. Бродским [6, 7], к *Pontastacus* относится 6 видов. Я. И. Старобогатов [8] провел ревизию существующего систематического положения длиннопалого рака, определив, что *Pontastacus* включает 9 видов.

Таким образом, из-за отсутствия единой системы классификации таксона длиннопалый рак в настоящее время считается видовым комплексом [1, 9]. При этом одни астокологи склонны относить этот вид к роду *Astacus* [10, 11], другие – к *Pontastacus* [12, 13].

Несмотря на неоднозначный статус длиннопалого рака, до сих пор комплексные молекулярные исследования этого вида не проводились, а сопоставимых данных по его морфологической изменчивости относительно немного [13, 14].

Дискриминантный анализ, основанный на сравнении многих морфометрических параметров, выявляет различия не только между видами, но и между популяциями [15], а кроме того, позволяет типировать популяции с целью дальнейших молекулярных исследований [16].

Сравнительная морфометрическая характеристика раков водных объектов Беларуси никогда не проводилась, однако следует отметить, что имеется множество данных по промерам общей длины [17].

Цель работы – оценить экстерьерное разнообразие популяций длиннопалого рака и установить степень сходства и различия морфометрических параметров отдельных популяций.

Материалы и методы исследования. Сбор материала проведен в мае 2017 г. в юго-западной части Беларуси на озерах бассейна рек Западный Буг и Припять. Отлов раков проводили раколовками. Локализация мест отлова раков показана в табл. 1.

Таблица 1. Географические координаты исследованных популяций и количество измеренных особей

Table 1. Geographic coordinates of the populations and the number of measured individuals

Водоем	Координаты		К-во особей		
	N	E	Самцы	Самки	Всего
оз. Белое	52°49'02,31"	23°42'19,55"	15	18	33
оз. Селяхи	51°36'04,29"	23°36'40,86"	10	51	61
оз. Страдечское	51°52'54,60"	23°44'38,78"	11	8	19
оз. Меднянское	51°52'29,23"	23°44'37,86"	11	22	33
оз. Бобровичское	52°37'08,27"	25°46'22,19"	12	12	24
оз. Олтушское	51°41'19,13"	23°57'39,80"	45	21	66
оз. Гоща	52°25'30,84"	25°40'39,32"	62	30	92
Итого			166	162	328

У отловленных особей измеряли 26 морфометрических параметров (рис. 1), 24 из которых являются общепринятыми для идентификации речных раков [14, 15], а 2 (ширина и длина частей тельсона) добавлены нами, поскольку морфологическая изменчивость тельсона считается важной характеристикой [18]. Измерения проводили с помощью электронного штангенциркуля с точностью 0,01 мм. Особей с повреждениями тела в исследование не включали.

При анализе симметрии выявлены статистически значимые отличия между правой и левой сторонами длины головного отдела карапакса и всеми измеряемыми параметрами клешней (t -тест, $p > 0,05$), поэтому для параметров HEL, CLL, CFL, CPL, CLH, CLW рассчитывали средние значения. При анализе все показатели промеров делили на величину пост-орбитальной длины (POL = HEL + ARL). Дополнительно использовали индекс соотношения POL:CPW и параметр ALFA (α), обозначающий боковую кривизну карапакса [15]. Чтобы исключить ошибки, которые могут возникнуть из-за разницы в размерах тела раков, исследуемые показатели выражали в относительных величинах. Из-за сильно выраженного полового диморфизма и значительных отличий в закономерностях изменчивости параметров промеры самок и самцов анализировали отдельно.

Определение морфометрической изменчивости изученных популяций осуществляли с помощью дисперсионного анализа, используя тесты post hoc Bonferroni, а также поэтапного дискриминантного анализа всех параметров, используя программу IBM SPSS Statistics 23. Статистически достоверным считали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования. Диапазон изменчивости размеров и массы анализируемых особей показан в табл. 2.

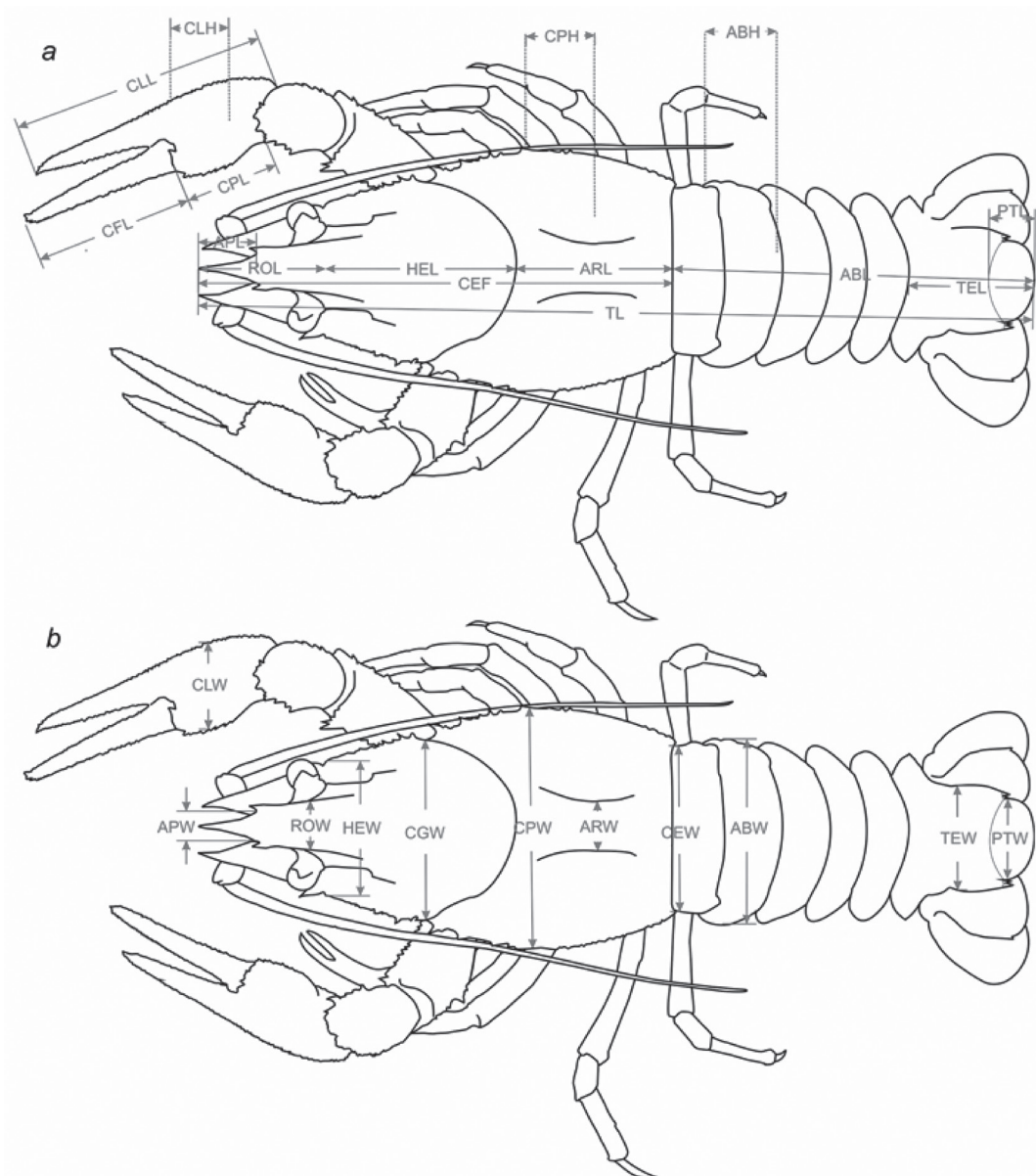


Рис. 1. Схемы измерения морфометрических параметров раков (*a* – длины и высоты, *b* – ширины). TL – общая длина тела, APL – длина апекса (острия роострума), APW – ширина апекса, ROL – длина роострума, ROW – ширина роострума, CEF – длина карапакса, CPW – ширина карапакса, CPH – высота карапакса, CGW – ширина карапакса по цервикальной борозде, ARW – ширина между сердечными бороздами, HEL – длина головного отдела карапакса без роострума, HEW – ширина головного отдела карапакса, ARL – длина грудного отдела карапакса, CEW – ширина задних краев карапакса, ABL – длина абдомена, ABW – ширина абдомена, ABH – высота абдомена, TEL – длина тельсона, TEW – ширина тельсона, PTL – длина частей тельсона, PTW – ширина частей тельсона, CLL – длина клешни, CFL – длина подвижной части клешни, CPL – длина неподвижной части клешни, CLH – толщина клешни, CLW – ширина клешни

Fig. 1. Measured morphometric parameters: *a* – length and height parameters, *b* – width parameters. TL – total length, APL – apex length, APW – apex width, ROL – rostrum length, ROW – rostrum width, CEF – carapace length, CPW – carapace width, CPH – carapace height, CGW – width at the cervical groove, ARW – areolar width, HEL – head length, HEW – head width, ARL – areolar length, CEW – width at the hind edges of the carapace, ABL – abdomen length, ABW – abdomen width, ABH – abdomen height, TEL – telson length, TEW – telson width, PTL – part of telson length, PTW – part of telson width, CLL – claw length, CFL – claw finger length, CPL – claw palm length, CLH – claw height, CLW – claw width

Т а б л и ц а 2. Показатели веса и длины тела раков

Table 2. Characteristics of weight and body length of the specimens included in the analysis

Водоём	Самцы				Самки			
	Общая длина тела, мм		Масса тела, г		Общая длина тела, мм		Масса тела, г	
	Среднее значение	Диапазон	Среднее значение	Диапазон	Среднее значение	Диапазон	Среднее значение	Диапазон
оз. Белое	95,01 ± 5,04	77,21–152,00	26,58 ± 2,85	15,3–49,9	95,14 ± 3,12	61,60–110,27	25,73 ± 2,16	13,3–38,2
оз. Селяхи	90,48 ± 3,07	72,21–103,00	23,28 ± 0,98	16,9–27,2	95,13 ± 1,60	71,66–123,13	28,27 ± 1,41	10,9–53,9
оз. Страдичское	86,06 ± 3,02	69,60–101,36	22,19 ± 2,48	10,7–35,4	23,87 ± 3,00	78,78–115,30	92,88 ± 4,85	15,5–40,1
оз. Меднянское	96,89 ± 2,64	85,35–111,35	31,18 ± 2,60	20,5–48,2	94,86 ± 2,83	72,06–122,27	28,06 ± 2,49	11,8–55,7
оз. Бобровичское	98,06 ± 4,00	69,62–110,92	33,89 ± 3,77	11,9–51,5	100,80 ± 4,93	74,39–125,46	30,82 ± 4,05	12,8–53,2
оз. Олтушское	95,18 ± 1,96	72,59–128,53	30,08 ± 2,04	11,50–71,30	85,49 ± 1,02	74,28–92,37	17,95 ± 0,69	11,50–23,60
оз. Гоща	92,64 ± 3,31	67,58–138,50	24,29 ± 2,67	9,00–74,10	96,86 ± 2,18	58,01–134,89	32,28 ± 2,11	7,70–73,10

Дисперсионный анализ показал, что по большинству анализируемых параметров между особями обоего пола имеются статистически значимые различия (табл. 3). Не обнаружено отличий только по длине карапакса (CPL) у самцов и самок, а также по ширине рострума (ROW), ширине частей тельсона (PTW) у самцов и ширине между краями цервикальной борозды (CGW).

Т а б л и ц а 3. Результаты одностороннего дисперсионного анализа ANOVA

Table 3. The results of one-way ANOVA analysis of variance

Параметр	Самцы		Самки	
	F	Значимость	F	Значимость
TL	3,122	0,006	2,050	0,062
APL	7,942	0,000	3,671	0,002
ROL	2,435	0,028	2,603	0,020
CPL	1,791	0,104	1,931	0,079
HEL	4,521	0,000	5,250	0,000
ARL	4,077	0,001	5,183	0,000
CPH	18,412	0,000	21,627	0,000
ARW	8,317	0,000	3,982	0,001
CPW	8,853	0,000	5,080	0,000
CGW	2,692	0,016	1,384	0,224
HEW	20,439	0,000	3,707	0,002
ROW	0,759	0,603	3,753	0,002
APW	16,546	0,000	21,045	0,000
ABH	3,041	0,008	11,664	0,000
PTL	4,999	0,000	7,217	0,000
TEL	5,456	0,000	4,425	0,000
ABL	3,665	0,002	6,904	0,000
CEW	6,134	0,000	5,626	0,000
ABW	3,265	0,005	24,985	0,000
TEW	22,182	0,000	4,889	0,000
PTW	1,988	0,070	10,453	0,000
CLL	14,943	0,000	13,161	0,000
CFL	18,014	0,000	10,381	0,000
CLP	16,003	0,000	22,154	0,000
CLH	33,138	0,000	32,422	0,000
CLW	25,410	0,000	26,937	0,000
POL:CPW	7,455	0,000	3,813	0,001
ALFA	2,709	0,016	2,222	0,044

Примечание. Полужирным выделены значения, не имеющие достоверных статистических различий.

Параметры, по которым отличаются между собой как самцы, так и самки, относятся ко всем сравниваемым частям тела раков – абдомену, карапаксу, клешням. При сравнении абдомена большие различия между популяциями наблюдаются у самок, особенно у популяции из оз. Гоща (у этой популяции отличия были статистически значимы по всем измеряемым параметрам абдомена, $p < 0,05$).

Тесты post hoc Bonferroni показали, что по длине тельсона самцы из оз. Гоща отличаются от самцов из озер Меднянское ($p = 0,024$) и Олтушское, а самки из оз. Гоща – от самок из озер Олтушское и Селяхи ($p = 0,000$), а также Меднянское ($p = 0,015$), в меньшей степени – от самок из оз. Белое ($p = 0,046$). Ширина тельсона (TEW) отличается у самцов из оз. Гоща и у всех других сравниваемых популяций ($p < 0,001$), а также у самок из озер Гоща и Белое, а также Селяхи и Олтушское ($p < 0,002$). По длине частей тельсона (PTL) у самцов отличаются популяции из озер Бобровичское, Страдечское, Олтушское и Гоща ($p < 0,016$), у самок – из озер Селяхи, Меднянское, Гоща.

Параметры карапакса, в отличие от параметров абдомена, значительно больше различаются у самцов, чем у самок. Промеры, связанные с рострумом, такие как длина апекса у самцов, у особей из оз. Бобровичское отличаются от таковых у особей всех других озер ($p < 0,013$), за исключением оз. Олтушское. Самки по этим параметрам не различаются в озерах Селяхи и Меднянское. Ширина апекса (APW) у самцов и самок из оз. Гоща отличается от таковой у всех других популяций ($p < 0,003$ и $p = 0,000$ соответственно). Длина рострума у особей обоего пола отличается в озерах Бобровичское, Селяхи, Олтушское ($p < 0,05$), а также у самцов из оз. Гоща. По ширине рострума отличия обнаружены только у самок из озер Гоща и Селяхи ($p = 0,002$). Для самцов параметры головного отдела карапакса (HEL, HEW) отличаются в популяциях из озер Гоща, Бобровичское, Олтушское, Селяхи ($p < 0,05$). Самки из оз. Селяхи статистически значимо отличаются по этому параметру от всех других популяций ($p = 0,000$). Различия отмечаются также по расстоянию между сердечными бороздами у самцов из озер Бобровичское и Селяхи, а также Меднянское ($p < 0,010$). У самок различия отмечены между популяциями из озер Белое, Селяхи, Страдечское и популяциями из озер Бобровичское, Олтушское и Гоща ($p < 0,023$). По параметру POL:CPW особи обоего пола из оз. Белое отличались от особей из озер Гоща и Меднянское ($p < 0,05$), самцы из оз. Белое – от особей из оз. Страдечское ($p = 0,017$), а из оз. Гоща – от особей озер Селяхи и Олтушское ($p < 0,005$).

Т а б л и ц а 4. Стандартизованные канонические коэффициенты дискриминационных функций для морфометрических характеристик самцов

Table 4. Standardized canonical coefficients of discriminatory functions of the morphometric characteristics of males

Морфометрический параметр	Функция 1	Функция 2
CPH	0,465	-0,070
ARW	0,106	0,272
HEW	-0,145	-0,886
TEL	-0,469	0,516
ABL	0,510	-0,834
CEW	0,095	0,654
ABW	0,447	-0,246
TEW	-1,127	0,184
WPT	0,835	0,312
CFL	0,378	-0,873
CLH	0,225	0,813
CLW	-0,098	0,353
POL:CPW	0,497	0,079
Дисперсия, %	56,7	26,9

Тесты post hoc показали, что в популяции из оз. Гоща наибольшие отличия по всем параметрам клешни (CLL, CFL, CLP, CLH, CLW) отмечаются у особей обоего пола ($p < 0,05$), а в популяции из оз. Олтушское различия по параметрам CLP, CLH и CLW имеются у особей обоего пола, по длине клешней – только у самок.

Согласно результатам поэтапного дискриминантного анализа, первые две дискриминационные функции объясняют большую часть дисперсии в параметрах самцов, при этом первая дискриминантная функция объясняет 56,7 % общей дисперсии, вторая – 26,9 %. При дискриминантном анализе изменчивость 13 параметров у самцов определяет разнообразие популяций, наиболее значимыми из которых являются ширина тельсона (TEW), ширина частей тельсона (PTW) и длина абдомена (ABL) по первой дискриминантной функции и ширина головного отдела карапакса (HEW), длина подвижной части клешни (CFL), длина абдомена (ABL), толщина клешни (CLH) по второй дискриминантной функции (табл. 4).

С помощью дискриминационного анализа у самок установлено 12 морфометрических параметров, позволяющих выявить отличия между популяциями. В 69,5 % случаев дисперсию объясняет первая дискриминационная функция,

Таблица 5. Стандартизованные канонические коэффициенты дискриминационных функции для морфометрических характеристик самок

Table 5. Standardized canonical coefficients of discriminatory functions of the morphometric characteristics of females

Морфометрический параметр	Функция 1	Функция 2
ARL	0,002	-0,014
CPH	0,412	-0,729
APW	-0,446	0,166
ABH	-0,161	0,619
TEL	0,036	0,113
ABL	0,244	-0,521
ABW	0,427	0,369
TEW	-0,624	0,138
CFL	0,197	-0,566
CLP	0,117	0,392
CLH	0,777	0,399
POL:CPW	0,468	-0,129
Дисперсия, %	68,5	16,1

Таблица 6. Средние значения дискриминантных переменных для 7 популяций

Table 6. Mean values of discriminant variables for 7 populations

Водоем	Самцы		Самки	
	Функция 1	Функция 2	Функция 1	Функция 2
оз. Белое	1,742	1,494	0,895	-0,483
оз. Селяхи	2,550	4,179	1,685	0,161
оз. Страдечское	1,539	1,009	0,783	1,441
оз. Меднянское	2,510	0,502	1,408	0,575
оз. Бобровицкое	0,842	1,030	0,315	1,791
оз. Олтушское	1,817	-2,151	-0,21	-2,560
оз. Гоца	-3,033	,059	-4,754	0,286

с помощью которой определяются параметры, которые имеют наибольшие различия: толщина клешни (CLH), ширина тельсона (TEW) и соотношение POL:CPW. Значение второй функции объясняет 16,1 % дисперсии, а наиболее изменчивыми параметрами являются высота карапакса (CPH), высота абдомена (ABH) и длина подвижной части клешни CFL (табл. 5).

Среднее значение первой дискриминантной функции самцов позволяет четко отделить популяцию из оз. Гоца от остальных популяций раков (табл. 6, рис. 2, 3).

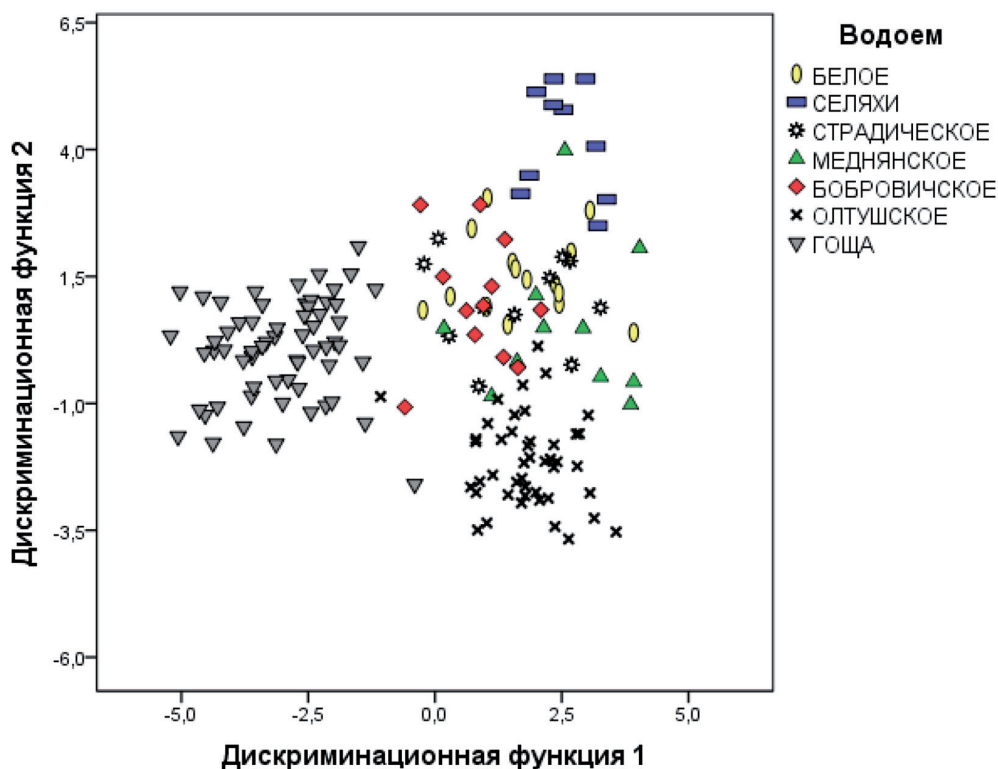


Рис. 2. Графическое представление различий между популяциями самцов

Fig. 2. Discrimination by the first two discriminant functions for males

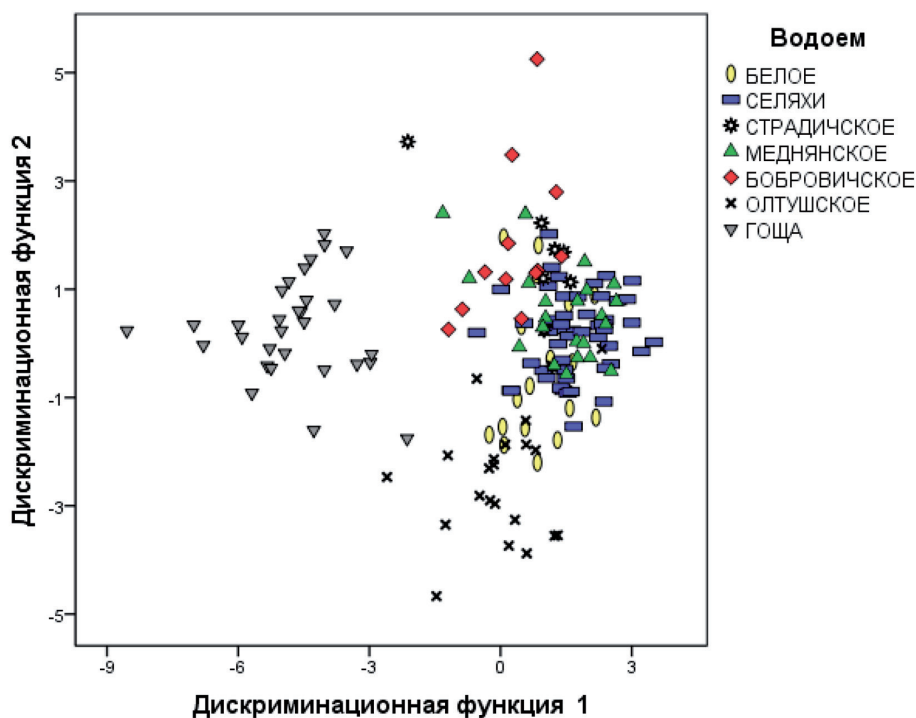


Рис. 3. Графическое представление различий между популяциями самок

Fig. 3. Discrimination by the first two discriminant functions for females

Низкие значения параметров первой дискриминантной функции, такие как TEW, TEL, HEW (см. табл. 4), показывают, что в популяции самцов из оз. Гоща эти промеры низкие по сравнению с другими популяциями, а высокие значения WPT, ABL, POL:CPW, ABW указывают то, что во всех популяциях по сравнению с популяцией оз. Гоща значения промеров более высокие. Отрицательные значения параметров второй дискриминантной функции по параметрам HEW, CFL, ABL указывают, что у самцов из популяции оз. Олтушское характеризуются низкими значениями этих параметров, а более высокие значения CLH, CEW, TEL указывают то, что в популяции из оз. Селяхи эти параметры имеют высокие значения по сравнению с другими. У самок же значения первой дискриминационной функции указывают на то, что популяция из оз. Гоща, имевшая отрицательные значения функции, отличается от всех других популяций с положительными значениями функции (табл. 6, рис. 3). Значения CLH, POL:CPW, ABW (см. табл. 5) указывают на то, что в популяциях из озер Белое, Селяхи, Меднянское, Бобровицкое и Олтушское эти параметры более высокие, чем у самок из оз. Гоща. Значения TEW, APW, ABH показывают, что в популяции самок из оз. Гоща параметры меньше, чем у других самок, а значения CPH, CFL, ABL при второй дискриминантной функции означают, что в популяции самок из

Т а б л и ц а 7. Распределение самцов по отношению к конкретным популяциям

T a b l e 7. Results of classification to different populations for males

Водоем	оз. Белое	оз. Селяхи	оз. Страдечское	оз. Меднянское	оз. Бобровицкое	оз. Олтушское	оз. Гоща
оз. Белое	14/93,3	0/0,0	1/6,7	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0
оз. Селяхи	1/10,0	8/80,0	1/10,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0
оз. Страдечское	1/9,1	0/0,0	8/72,0	1/9,1	1/9,1	0/0,0	0/0,0
оз. Меднянское	1/9,1	0/0,0	2/18,2	7/63,6	1/9,1	0/0,0	0/0,0
оз. Бобровицкое	0/0,0	0/0,0	1/8,3	0/0,0	11/91,7	0/0,0	0/0,0
оз. Олтушское	0/0,0	0/0,0	1/2,2	0/0,0	1/2,2	42/93,3	1/2,2
оз. Гоща	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/1,6	61/98,4

П р и м е ч а н и е. Данные представлены как количество особей/процент по отношению к целой популяции. Из первоначально сгруппированных проб правильно классифицировано 91,0 %.

Т а б л и ц а 8. Распределение самок по отношению к конкретным популяциям

T a b l e 8. Results of classification to different populations for females

Водоем	оз. Белое	оз. Селяхи	оз. Страдечское	оз. Меднянское	оз. Бобровицкое	оз. Олтушское	оз. Гоща
оз. Белое	11/61,1	2/11,1	1/5,6	3/16,7	0/0,0	1/5,6	0/0,0
оз. Селяхи	4/7,8	39/76,5	2/3,9	6/11,8	0/0,0	0/0,0	0/0,0
оз. Страдечское	0/0,0	1/12,5	2/25,0	4/50,0	1/12,5	0/0,0	0/0,0
оз. Меднянское	1/4,5	1/4,5	1/4,5	18/81,8	1/4,5	0/0,0	0/0,0
оз. Бобровицкое	0/0,0	0/0,0	1/8,3	0/0,0	11/91,7	0/0,0	0/0,0
оз. Олтушское	1/4,8	1/4,8	0/0,0	0/0,0	0/0,0	19/90,5	0/0,0
оз. Гоща	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/3,3	29/96,7

П р и м е ч а н и е. Данные представлены как количество особей/процент по отношению к целой популяции. Из первоначально сгруппированных проб правильно классифицировано 79,6 %.

оз. Олтушское более низкие значения этих параметров. Значения АВН, CLH, ARW, CLP указывают на то, что в популяциях озер Страдечское и Бобровицкое эти промеры более высокие.

При проведении дискриминантного анализа по размерным параметрам среди обследованных самцов доля правильно классифицированных особей по отношению к конкретным популяциям была выше, чем у самок, – 91 и 79,6 % соответственно (табл. 7, 8). Для популяций из озер Гоща, Олтушское, Бобровицкое получены высокие доли правильной классификации как для самцов, так и для самок. Для других озер различия в классификации были более выражены.

Обсуждение. Предполагается, что генетическое разнообразие определяет различия в фенотипе [19]. Одним из методов исследования фенотипа является морфометрия, которая дает точное описание морфологии изучаемых объектов. Сопоставление данных, основанное на многомерном каноническом дискриминантном анализе, позволяет показать различия не только между видами длиннопалого рака [20], но и между популяциями одного вида [20, 21] или видового комплекса [14, 16]. Исследование популяций длиннопалого рака Западного Полесья выявили отличия в морфологии особей из различных озер. При проведении дискриминантного анализа морфометрических показателей процент правильной классификации у самцов был выше, чем у самок, что свидетельствует о том, что анализ параметров самцов больше подходит для оценки различий между популяциями длиннопалого рака. Более высокий процент правильной классификации самцов был также у другого вида из семейства Astacidae – широкопалого рака [12, 15]. При сравнении популяций длиннопалого рака из Хорватии и Армении у особей обоего пола установлен высокий процент правильной классификации [14]. Следует отметить, что нами изучены особи из одного региона, а озера Белое, Селяхи, Страдечское и Меднянское расположены в непосредственной близости друг от друга. Это нашло отражение в результатах классификации самок, популяции которых из озер Меднянское и Страдечское характеризуются общими чертами (большинство самок из оз. Страдечское классифицированы как особи из оз. Меднянское). Отметим, что озера Страдечское и Меднянское соединены протокой, по которой раки могут мигрировать.

Полученные результаты подтверждают эффективность используемого метода. Известно, что изоляция популяций и отсутствие потока генов [22] влияют на высокую степень правильной классификации особей при дискриминантном анализе морфологических параметров в конкретных популяциях [15]. Несмотря на то что у самцов выявлены более выраженные отличия, сравнительный анализ популяций раков должен проводиться и по промерам самок.

Установленные нами параметры, отличающие популяции самцов между собой, сходны с параметрами, приведенными Maguire и Dakić [14], и относятся в основном к промерам карапакса и тельсона, в меньшей степени – к промерам клешней. Тем не менее, в обоих случаях конкретные параметры были разными. В популяциях самок из Хорватии и Армении имелись различия при промерах клешней и общей длины тела [14], а в популяциях Полесского региона Беларуси самки различались в основном по тем же параметрам, что и самцы, но большую значимость имели параметры клешней.

Параметры, по которым отличаются популяции длиннопалого рака Полесского региона страны, совпадают с параметрами, отличающими популяции широкопалого рака на Балканах. При этом в обоих случаях имели значимость такие параметры, как ширина головного отдела карапакса и тельсона, а также толщина клешни и параметры карапакса [20]. В работе Sint с соавт. [21] дискриминационный анализ основан главным образом на промерах карапакса и клешней, что позволило установить четкие отличия между популяциями раков *Austropotamobius pallipes*, *A. torrentium* и *Astacus astacus*. Те же авторы отмечают, что меньшая значимость параметров абдомена в различных популяциях может быть связана с важной репродуктивной функцией этой части тела у самок и с их адаптивной изменчивостью. Изученные полесские популяции и популяции широкопалых раков на Балканах не были консервативны по параметрам абдомена, что значительно повлияло на дифференциацию популяций.

Центр гаплотипического разнообразия широкопалого рака в Европе сконцентрирован в Германии и на Балканах [23], и в обоих случаях были доказаны различия в морфометрии между популяциями *A. astacus*, обитающими в этих регионах [20, 21]. Продемонстрированные с помощью морфометрического анализа различия между популяциями длиннопалого рака [14] были подтверждены молекулярно-генетическим методом, а изученные популяции были разделены на отдельные филогруппы, представляющие две отдельные эволюционные линии [16]. Изучение морфометрии и генетики раков показало, что отсутствие морфологических отличий отражается также на генетическом уровне [24].

С другой стороны, известно, что наличие морфометрических отличий у раков зависит от среды обитания (это подтверждено при исследовании популяций, обитающих в текущих и стоячих водах [25, 26]), однако степень фенотипического разнообразия длиннопалого рака в зависимости от среды обитания неизвестна.

Современное распространение аборигенных раков в Европе было сформировано под значимым антропогенным влиянием [27], и среди большинства астокологов существует убеждение, что появление длиннопалого рака в бассейне Балтийского моря является результатом деятельности человека [2]. Созданные человеком популяции часто характеризуются наличием эффекта бутылочного горлышка [28], что может отражаться и на морфологических различиях, так как известно, что эффект бутылочного горлышка может индуцировать морфологические изменения [29–31]. Следовательно, нельзя исключать и того, что указанные различия между популяциями длиннопалых раков на территории Полесья также являются результатом проявления эффекта бутылочного горлышка.

Заключение. Согласно полученным нами результатам исследования, различия морфологических признаков у популяций длиннопалого рака в западной части Полесского региона страны имеют неясное происхождение. Поэтому, чтобы оценить таксономический статус комплекса видов, каким является длиннопалый рак, необходимо провести молекулярно-генетические исследования в сочетании с морфологической идентификацией популяций. Определение генетической структуры позволит не только объяснить многие морфологические аспекты, но и станет незаменимым инструментом при разработке планов управления популяциями длиннопалого рака как ресурсного вида.

Благодарности. Работа проведена при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Б16К-011 «Определение видового состава и оценка ресурсного потенциала речных раков водоемов бассейна реки Припять».

Acknowledgements. This study was financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, project no. Б16К-011, entitled “Identification of species composition and evaluation of resource potential of crayfish in Pripjat River basin”.

Список использованных источников

1. A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species / D. M. Holdich [et al.] // Knowledge Management of Aquatic Ecosystems. – 2009. – N 394–395. – P. 11. <https://doi.org/10.1051/kmae/2009025>
2. Kouba, A. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps / A. Kouba, A. Petrusek, P. Kozák // Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems. – 2014. – N 413. – P. 05. <https://doi.org/10.1051/kmae/2014007>
3. Bott, R. Die Flusskrebse Europas / R. Bott // Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft. – 1950. – N 483. – P. 1–36.

4. Karaman, M. S. Ein Beitrag zur Systematik der Astacidae (Decapoda) / M. S. Karaman // *Crustaceana*. – 1962. – Vol. 3, N 3. – P. 173–191. <https://doi.org/10.1163/156854062x00409>
5. Karaman, M. S. Studie der Astacidae (Crustacea, Decapoda). II Teil. / M. S. Karaman // *Hydrobiologia*. – 1963. – Vol. 22, N 1–2. – P. 111–132. <https://doi.org/10.1007/bf00039685>
6. Brodsky, S. Y. On the systematics of palaeartic crayfishes (Crustacea, Astacidae) / S. Y. Brodsky // *Freshwater Crayfish*. – 1983. – Vol. 5. – P. 464–469.
7. Фауна Украины : в 40 т. / редкол. : В. А. Топачевский (пред.) [и др.]. – Киев : Наук. думка. – Т. 26 : Высшие раки, вып. 3 : Речные раки / С. Я. Бродский. – 1981. – 210 с.
8. Starobogatov, Y. I. Taxonomy and geographical distribution of crayfishes Asia and East Europe (Crustacea, Decapoda, Astacoidei) / Y. I. Starobogatov // *Arthropoda Selecta*. – 1995. – Vol. 4, N 3. – P. 3–25.
9. Atlas of Crayfish in Europe / C. Souty-Grosset [et al.]. – Paris : Museum d'Historie naturelle, 2006. – 187 p.
10. Harlioğlu M. M. The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey / M. M. Harlioğlu // *Aquaculture*. – 2004. – Vol. 230, N 1–4. – P. 181–187. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(03\)00429-0](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00429-0)
11. Holdich, D. M. Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries / D. M. Holdich // *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*. – 2002. – N 367. – P. 611–650. <https://doi.org/10.1051/kmae:2002055>
12. Crandall, K. A. An updated classification of the freshwater crayfishes (Decapoda: Astacidea) of the world, with a complete species list / K. A. Crandall, S. de Grave // *J. Crustacean Biol.* – 2017. – Vol. 37, N 5. – P. 615–653. <https://doi.org/10.1093/jcbiol/rux070>
13. A proposal for accepting *Pontastacus* as a genus of European crayfish within the family Astacidae based on a revision of the west and east European taxonomic literature / P. Šmietana [et al.] // *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*. – 2006. – N 380–381. – P. 1041–1052. <https://doi.org/10.1051/kmae:2006010>
14. Maguire, I. Comparative analyses of *Astacus leptodactylus* morphological characteristics from Croatia and Armenia / I. Maguire, L. Dakić // *Biologia*. – 2011. – Vol. 66, N 3 – P. 491–498. <https://doi.org/10.2478/s11756-011-0045-y>
15. Sint, D. Morphological variations in *Astacus astacus* L. and *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) populations / D. Sint, J. Dalla Via, L. Füreder // *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*. – 2005. – N 376–377. – P. 637–652. <https://doi.org/10.1051/kmae:2005021>
16. Two distinct evolutionary lineages of the *Astacus leptodactylus* species-complex (Decapoda : Astacidae) inferred by phylogenetic analyses / I. Maguire [et al.] // *Invertebrate Systematics*. – 2014. – Vol. 28, N 2. – P. 117–123. <https://doi.org/10.1071/is13030>
17. Алехнович, А. В. Речные раки Беларуси в современных условиях: распространение, динамика численности, продукционно-промысловый потенциал / А. В. Алехнович. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 303 с.
18. Persistent infection by crayfish plague *Aphanomyces astaci* in a noble crayfish population – a case report / S. Viljamaa-Dirks [et al.] // *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. – 2011. – Vol. 31, N 5. – P. 182–188.
19. Klingenberg, C. P. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms / C. P. Klingenberg // *Gene*. – 2002. – Vol. 287. – N 1–2. – P. 3–10. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(01\)00867-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(01)00867-8)
20. Morphometric variations among *Astacus astacus* populations from different regions of the Balkan Peninsula / S. Đuretanić [et al.] // *Zoomorphology*. – 2016. – Vol. 136, N 1. – P. 19–27. <https://doi.org/10.1007/s00435-016-0331-x>
21. Sint, D. Phenotypical characterization of indigenous freshwater crayfish populations / D. Sint, J. Dalla Via, L. Füreder // *J. Zool.* – 2007. – N 273. – P. 210–219. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2007.00318.x>
22. Mitochondrial and microsatellite DNA analyses of *Austropotamobius pallipes* in South Tyrol (Italy) and Tyrol (Austria) / S. Baric [et al.] // *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*. – 2005. – N 376–377. – P. 599–612. <https://doi.org/10.1051/kmae:2005018>
23. Phylogeography of noble crayfish (*Astacus astacus*) reveals multiple refugia / A. Schrimpf [et al.] // *Freshwater Biol.* – 2014. – Vol. 59, N 4. – P. 761–776. <https://doi.org/10.1111/fwb.12302>
24. Grandjean, F. Genetic and morphological variation in the endangered crayfish species, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) (Crustacea, Astacidae) from the Poitou–Charentes region (France) / F. Grandjean, C. Souty-Grosset // *Aquatic Science*. – 2000. – Vol. 62, N 1. – P. 1–19. <https://doi.org/10.1007/pl00001327>
25. Chambers, C. L. Geographic variation in the dwarf crayfish, *Cambarellus puer* Hobbs (Decapoda, Cambaridae) / C. L. Chamber, M. L. Kennedy, J. F. Payne // *Crustaceana*. – 1979. – Vol. 36, N 1. – P. 39–55. <https://doi.org/10.1163/156854079x00195>
26. Haddaway N. R. Morphological diversity and phenotypic plasticity in the threatened British white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) / N. R. Haddaway [et al.] // *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*. – 2012. – Vol. 22, N 2. – P. 220–231. <https://doi.org/10.1002/aqc.2225>
27. Albrecht, H. Besiedlungsgeschichte und ursprünglich holozäne Verbreitung der europäischen Flusskrebse / H. Albrecht // *Spixiana*. – 1983. – Vol. 6, N 1. – P. 61–77.
28. Grandjean, F. Drastic bottlenecks in the endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* in Spain and implications for its colonization history / F. Grandjean [et al.] // *Heredity*. – 2001. – Vol. 86, N 4. – P. 431–438. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00849.x>
29. Bryant, E. H. Nonadditive genetic structuring of morphometric variation in relation to a population bottleneck / E. H. Bryant, L. M. Meffert // *Heredity*. – 1996. – Vol. 77, N 2. – P. 168–176. <https://doi.org/10.1038/hdy.1996.121>
30. Bryant, E. H. Multivariate phenotypic differentiation among bottleneck lines of the housefly / E. H. Bryant, L. M. Meffert // *Evolution*. – 1990. – Vol. 44, N 3. – P. 660–668. <https://doi.org/10.2307/2409443>
31. Templeton, A. The relation between speciation mechanisms and macroevolutionary patterns / A. Templeton // *Evolutionary Processes and Theory*. – 1986. – P. 497–512. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-398760-0.50025-0>

References

1. Holdich D. M., Reynolds J. D., Souty-Grosset C., Sibley P. J. A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowledge Management of Aquatic Ecosystems*, 2009, no. 394–395, p. 11. <https://doi.org/10.1051/kmae/2009025>
2. Kouba A., Petrušek A., Kozák P. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 2014, no. 413, p. 05. <https://doi.org/10.1051/kmae/2014007>
3. Bott R. Die Flusskrebse Europas. *Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft*, 1950, no. 483, pp. 1–36.
4. Karaman M. S. Ein Beitrag zur Systematik der Astacidae (Decapoda). *Crustaceana*, 1962, vol. 3, no. 3, pp. 173–191. <https://doi.org/10.1163/156854062x00409>
5. Karaman M. S. Studie der Astacidae (Crustacea, Decapoda). II Teil. *Hydrobiologia*, 1963, vol. 22, no. 1–2, pp. 111–132. <https://doi.org/10.1007/bf00039685>
6. Brodsky S. Y. On the systematics of palaearctic crayfishes (Crustacea, Astacidae). *Freshwater Crayfish*, 1983, vol. 5, pp. 464–469.
7. Brodskii S. Ya. *Fauna of Ukraine. Vol. 26, iss. 3, Graduate Crayfish. River Crayfish*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1981. 210 p. (in Ukrainian).
8. Starobogatov Y. I. Taxonomy and geographical distribution of crayfishes Asia and East Europe (Crustacea, Decapoda, Astacoidei). *Arthropoda Selecta*, 1995, vol. 4, no. 3, pp. 3–25.
9. Souty-Grosset C., Holdich D., Noël P. Y., Reynolds J. D., Haffner P. Atlas of crayfish in Europe. Paris, Museum d'Historie naturelle, 2006. 187 p.
10. Harlıoğlu M. M. The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. *Aquaculture*, 2004, vol. 230, no. 1–4, pp. 181–187. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(03\)00429-0](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00429-0)
11. Holdich D. M. Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 2002, no. 367, pp. 611–650. <https://doi.org/10.1051/kmae:2002055>
12. Crandall K. A., de Grave S. An updated classification of the freshwater crayfishes (Decapoda: Astacidea) of the world, with a complete species list. *Journal of Crustacean Biology*, 2017, vol. 37, no. 5, pp. 615–653. <https://doi.org/10.1093/jcbiol/rux070>
13. Šmietana P., Schulz H. K., Keszka S., Schulz R. A proposal for accepting *Pontastacus* as a genus of European crayfish within the family Astacidae based on a revision of the west and east European taxonomic literature. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 2006, no. 380–381, pp. 1041–1052. <https://doi.org/10.1051/kmae:2006010>
14. Maguire I., Dakić L. Comparative analyses of *Astacus leptodactylus* morphological characteristics from Croatia and Armenia. *Biologia*, 2011, vol. 66, no. 3, pp. 491–498. <https://doi.org/10.2478/s11756-011-0045-y>
15. Sint D., Dalla Via J., Füreder L. Morphological variations in *Astacus astacus* L. and *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) populations. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 2005, no. 376–377, pp. 637–652. <https://doi.org/10.1051/kmae:2005021>
16. Maguire I., Podnar M., Jelić M., Štambuk A., Schrimpf A., Schulz H., Klobučar G. Two distinct evolutionary lineages of the *Astacus leptodactylus* species-complex (Decapoda : Astaciadae) inferred by phylogenetic analyses. *Invertebrate Systematics*, 2014, vol. 28, no. 2, pp. 117–123. <https://doi.org/10.1071/is13030>
17. Alekhovich A. V. The river crayfishes of Belarus nowadays: distribution, population dynamics and production-trade potential. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016. 303 p. (in Russian).
18. Viljamaa-Dirks S. Persistent infection by crayfish plague *Aphanomyces astaci* in a noble crayfish population – a case report. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 2011, vol. 31, no. 5, pp. 182–188.
19. Klingenberg C. P. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene*, 2002, no. 287, no. 1–2, pp. 3–10. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(01\)00867-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(01)00867-8)
20. Đuretanović S., Jaklič M., Milošković A., Radojković N., Radenković M., Simić V., Maguire I. Morphometric variations among *Astacus astacus* populations from different regions of the Balkan Peninsula. *Zoomorphology*, 2016, vol. 136, no. 1, pp. 19–27. <https://doi.org/10.1007/s00435-016-0331-x>
21. Sint D., Dalla Via J., Füreder L. Phenotypical characterization of indigenous freshwater crayfish populations. *Journal of Zoology*, 2007, vol. 273, no. 2, pp. 210–219. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2007.00318.x>
22. Baric S., Höllrigl A., Füreder L., Dalla via J. Mitochondrial and microsatellite DNA analyses of *Austropotamobius pallipes* in South Tyrol (Italy) and Tyrol (Austria). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 2005, no. 376–377, pp. 599–612. <https://doi.org/10.1051/kmae:2005018>
23. Schrimpf A., Theissinger K., Dahlem J., Maguire I., Pârvulescu L., Schulz H. K., Schulz R. Phylogeography of noble crayfish (*Astacus astacus*) reveals multiple refugia. *Freshwater Biology*, 2014, vol. 59, no. 4, pp. 761–776. <https://doi.org/10.1111/fwb.12302>
24. Grandjean F., Souty-Grosset C. Genetic and morphological variation in the endangered crayfish species, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet) (Crustacea, Astacidae) from the Poitou–Charentes region (France). *Aquatic Science*, 2000, vol. 62, no. 1, pp. 1–19. <https://doi.org/10.1007/pl00001327>
25. Chambers C. L., Kennedy M. L., Payne J. F. Geographic variation in the dwarf crayfish, *Cambarellus puer* Hobbs (Decapoda, Cambaridae). *Crustaceana*, 1979, vol. 36, no. 1, pp. 39–55. <https://doi.org/10.1163/156854079x00195>
26. Haddaway N. R., Mortimer R. J. G., Christmas M., Grahame J. W., Dunn A. M. Morphological diversity and phenotypic plasticity in the threatened British white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2012, vol. 22, no. 2, pp. 220–231. <https://doi.org/10.1002/aqc.2225>

27. Albrecht H. Besiedlungsgeschichte und ursprünglich holozäne Verbreitung dereuropäischen Flusskrebe. *Spixiana*, 1983, vol. 6, no. 1, pp. 61–77.

28. Grandjean F., Gouin N., Souty-Grosset C., Diéguez-Urbeondo J. Drastic bottlenecks in the endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* in Spain and implications for its colonization history. *Heredity*, 2001, vol. 86, no. 4, pp. 431–438. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00849.x>

29. Bryant E. H., Meffert L. M. Nonadditive genetic structuring of morphometric variation in relation to a population bottleneck. *Heredity*, 1996, vol. 77, no. 2, pp. 168–176. <https://doi.org/10.1038/hdy.1996.121>

30. Bryant E. H., Meffert L. M. Multivariate phenotypic differentiation among bottleneck lines of the housefly. *Evolution*, 1990, vol. 44, no. 3, pp. 660–668. <https://doi.org/10.2307/2409443>

31. Templeton A. The relation between speciation mechanisms and macroevolutionary patterns. *Evolutionary Processes and Theory*, 1986, pp. 497–512. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-398760-0.50025-0>

Інфармацыя аб аўторе

Сливинска Каролина – магистр біол. навук, мл. науч. супрацоўнік. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: karolina.sliwinska@outlook.com

Information about the author

Śliwińska Karolina – Master of Biology, Junior researcher. Scientific and Practical Center for Biological Resources of the National Academy of Sciences (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: karolina.sliwinska@outlook.com

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

УДК 591.363:595.371.13/15(476.2/.7)
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-72-81>

Поступила в редакцию 26.09.2018
Received 26.09.2018

А. И. Макаренко

Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА РАЗМНОЖЕНИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВИДОВ АМФИПОД (CRUSTACEA, AMPHIPODA) В УСЛОВИЯХ ВОДОТОКОВ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Впервые для территории Беларуси установлены особенности размножения 6 массовых чужеродных видов амфипод: *C. curvispinum*, *D. villosus*, *O. crassus*, *O. obesus*, *E. ischnus* и *D. haemobaphes*. Приведены данные о ежемесячных изменениях их плотности и биомассы, а также указаны виды, у которых эти изменения наиболее выражены. Определен диапазон температурных условий, при котором наблюдаются процессы размножения. В основном эти условия приурочены к теплomu времени года: все виды приступают к размножению весной при температуре 7,3–11,9 °С и заканчивают его осенью при температуре 9,7 °С. На основании изменений возрастного состава определены основные параметры жизненного цикла. Установлена продолжительность периода размножения для 5 изученных чужеродных видов, отмечено наличие 2–3 генераций в течение года, определено соотношение полов (превалирование самок у представленных видов свидетельствует о стабильности популяций). Полученные результаты исследований в сравнении с литературными данными для других частей ареала со сходными климатическими условиями в целом совпадают, различия определяются в основном температурными и экологическими условиями водотоков. В сравнении с популяциями других частей ареала, имеющими большую продолжительность периода размножения, в условиях Беларуси при более коротком репродуктивном периоде для 5 видов гаммарид соблюдается такое же число генераций, что указывает на широкие адаптивные возможности этих видов.

Ключевые слова: понто-каспийские виды, амфиподы, чужеродные виды, жизненный цикл, период размножения, ювенильные особи, соотношение полов, плотность, биомасса

Для цитирования: Макаренко, А. И. Особенности процесса размножения чужеродных видов амфипод (Crustacea, Amphipoda) в условиях водотоков Беларуси / А. И. Макаренко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 72–81. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-72-81>

A. I. Makaranka

Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences for Bioresources, Minsk, Republic of Belarus

FEATURES OF THE REPRODUCTION PROCESSES OF AMPHIPODS (CRUSTACEA, AMPHIPODA) ALIEN SPECIES IN THE CONDITIONS OF BELARUS WATERCOURSES

Abstract. For the first time in Belarus, reproduction features of 6 mass alien Amphipodae species have been established: *C. curvispinum*, *D. villosus*, *O. crassus*, *O. obesus*, *E. ischnus*, and *D. haemobaphes*. The data on the monthly changes in their density and biomass have been given, as well as the species these changes are most pronounced in. The range in temperature conditions, the reproduction processes are observed under, is determined. These conditions are mostly confined to the warm season: all species start reproduction in spring at a temperature of 7.9–11.9 °C and end it in autumn at a temperature of 9.7 °C. Based on changes in the age composition, the main parameters of the life cycle are determined. The reproduction period was established for 5 studied alien species, 2 to 3 generations were observed during a year, the sex ratio is determined (the prevalence of females in the species represented indicates the populations stability). The obtained research results, in comparison with the literature data for other parts of the area with similar climatic conditions, mostly coincide, the differences are mainly determined by the temperature and environmental conditions of watercourses. Compared with populations from other parts of the species distribution that have a longer reproduction period, the same number of generations with a shorter reproductive period is observed in Belarus conditions for 5 species of Gammaridae, which indicates the wide adaptive capabilities of these species.

Keywords: ponto-caspian species, amphipods, alien species, life cycle, breeding season, juveniles, sex ratio, density, biomass

For citation: Makaranka A. I. Features of the reproduction processes of amphipods (Crustacea, Amphipoda) alien species in the conditions of Belarus watercourses. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 72–81 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-72-81>

Введение. Способность в подходящих экологических условиях к расширению своего жизненного пространства присуща всем организмам. Географические ареалы многих видов животных хотя и консервативны, но исторически постоянно претерпевают какие-либо изменения. Принято считать, что до неолита формирование фауны шло естественным путем, а ареалы того времени и фаунистические комплексы являлись исходными [1, с. 31]. В результате человеческой деятельности [1, с. 26] значительно ускорились изменения ареалов путем трансформации среды обитания, устранения некоторых биогеографических барьеров, преднамеренных акклиматизаций и случайных интродукций. Наблюдаемая активизация процесса расселения в XX–XXI вв. связана с ростом товарооборота между странами [2–6]. Многие виды оказались далеко за пределами своего исходного ареала и натурализовались в новых, несвойственных им местообитаниях, где они считаются чужеродными.

Исходным ареалом для большинства чужеродных видов амфипод, представленных в Европе и Беларуси, являются солоноватоводные устья рек Каспийского и Азово-Черноморского бассейнов [7, 8]. Вселенцы из этой области, эврибионты, склонны к активной миграции на значительные расстояния, благодаря чему смогли проникнуть в пресные воды северных регионов [1, 9, 10].

В Беларуси зарегистрировано 9 чужеродных видов разноногих ракообразных: *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1899), *Echinogammarus trichiatus* (Martynov, 1932), *Chelicorophium curvispinum* (G. O. Sars, 1895), *Chelicorophium robustum* (G. O. Sars, 1895), *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Obesogammarus crassus* (G. O. Sars, 1894), *Obesogammarus obesus* (G. O. Sars, 1896) и *Pontogammarus robustoides* (G. O. Sars, 1894) [11].

Жизненные циклы некоторых чужеродных для различных частей современного ареала видов известны [12–16]. Однако в каждом новом регионе с совершенно иными экологическими условиями жизненная стратегия может существенно отличаться [16]. Параметры жизненного цикла чужеродного вида в новых условиях и его особенности имеют решающее значение как для оценки рисков, связанных с его вторжением, так и для прогноза колонизации новых водоемов [17].

Биология размножения чужеродных видов амфипод в новых для них экологических условиях Беларуси мало изучена ввиду их недавней экспансии [18]. Не освещены сроки размножения, половая структура, число генераций за год.

Цель работы – установить особенности жизненных циклов наиболее распространенных чужеродных видов амфипод в условиях южных водотоков Беларуси.

Объекты и методы исследования. Отбор проб производился круглый год на протяжении 2015–2016 гг. на выбранном участке р. Сож, п. Ченки (52°20'52"N, 30°58'10"E). Всего исследовано 6692 экземпляра семи чужеродных видов амфипод.

Отбор количественных проб производили в прибрежной зоне на каменисто-песчаном субстрате с использованием штангового дночерпателя с площадью облова 1/40 м². Отобранный грунт промывали через сито из капронового мельничного газа. Образцы исследуемого материала помещали в пластиковые емкости и фиксировали с помощью 70 %-ного раствора спирта [19].

Таксономическую идентификацию и половую принадлежность определяли по внешним признакам при помощи «Определителя фауны Черного и Азовского морей» [20], «A key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany» [21].

Пробы обрабатывали в лабораторных условиях с помощью бинокулярного микроскопа МБС-10 (увеличение от 8- до 56-кратного), используя авторскую разработку [22, 23]. Длину тела амфипод измеряли по А. А. Асочакову, определяя расстояние вдоль дорзальной стороны тела от дистального конца рострума до основания тельсона [24] с применением методики, основанной на использовании программы ПЭВМ для криволинейных объектов [25].

Сырую массу тела амфипод определяли на торсионных весах WT-50 и WT-500 с точностью до десятых долей миллиграмма, а также на аналитических весах Item PA214C.

Результаты и их обсуждение. По литературным сведениям [26] и собственным материалам, в данном местообитании встречается 7 чужеродных видов амфипод: *C. curvispinum*, *D. haemobaphes*, *E. ischnus*, *D. villosus*, *O. crassus*, *O. obesus* и *P. robustoides*. Вид *P. robustoides* как наиболее редкий для белорусских водотоков был отмечен единожды за весь период исследований.

Количество видов амфипод в различные месяцы изменялось (рис. 1). Так, в мае, июне, сентябре, октябре и ноябре в прибрежной полосе наблюдалось большее разнообразие видов, чем в другие месяцы, когда какой-либо из видов (или несколько) отсутствовал.

Необходимо отметить значительные колебания плотности (2,4–7521 экз/м²) и биомассы (0,018–87,513 г/м²) (рис. 1, 2). Основу биомассы формировали *D. villosus* и *D. Haemobaphes*, у которых она была наименьшей в марте (0,02 г/м²), максимальной – в октябре (87,51 г/м²). В то же время минимальная плотность зарегистрирована в марте, максимальная – в августе. Данное несоответствие объясняется размерным составом выловленных животных, когда особи крупных размеров при меньшем количестве создали большую биомассу, чем многочисленные мелкие ювенилы. Значительные изменения плотности и биомассы при отсутствии процессов размножения (конец сентября – начало октября), скорее всего, связаны с исчезновением зарослей высшей водной растительности, в том числе и роголистника погруженного *Ceratophyllum demersum* L., 1753, и невозможности их использования в качестве укрытия, в результате чего особи переместились на твердые погруженные предметы.

Начало массового выхода молоди бокоплавов наблюдается в конце апреля и мае (2250 экз/м², 28,56 г/м²). Однако ранее, в апреле (12.04.2015 г.), были зарегистрированы единичные ювенильные особи при прогревании водной среды до 7,3 °С, что могло свидетельствовать о начале периода размножения. Так как при этом наблюдалось полное отсутствие яйценосных самок, вероятнее всего, это перезимовавшие молодые животные предыдущей генерации. При достижении температуры воды 11,9 °С начало размножения после появления молоди новой генерации для всех видов амфипод, за исключением *D. haemobaphes*, отмечено 26.04.2015 г. (см. рис. 1). Таким образом, в условиях изученного водотока начало размножения совпало с нижней границей температурного оптимума в 12 °С, указываемого для этих животных [27]. Более низкие значения (10 °С) по температурным условиям получены польскими исследователями, [13, 14], а для некоторых видов зафиксированы случаи размножения даже при 7 °С [13, 15, 28].

Процессы размножения у яйценосных самок понто-каспийских амфипод в р. Сож продолжаются до конца сентября. В августе наблюдаются максимальные значения температуры, а также численности и биомассы. С первых чисел календарной осени происходит постепенное понижение плотности и биомассы, что связано с осенним понижением температуры. Полное отсутствие яйценосных самок, которое наблюдалось 10 октября при температуре воды 9,7 °С, можно считать завершением сроков размножения. Указанная температура при этом немного ниже значений, при которых начинается размножение. В пробах сохранялось значительное количество ювенильных особей, которые, вероятно, были результатом третьего пика выхода молоди. Начиная с конца ноября и до первой декады марта следующего года наблюдается

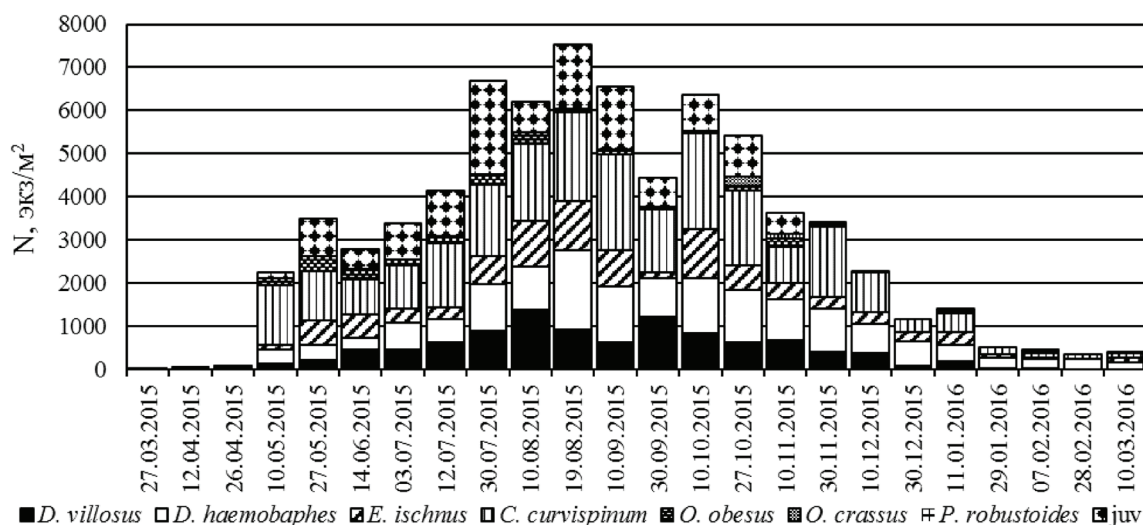


Рис. 1. Численность и видовой состав чужеродных видов в р. Сож, п. Ченки, в 2015–2016 гг.

Fig. 1. The abundance and species composition of alien species in the Sozh River, v. Chenki, in 2015–2016

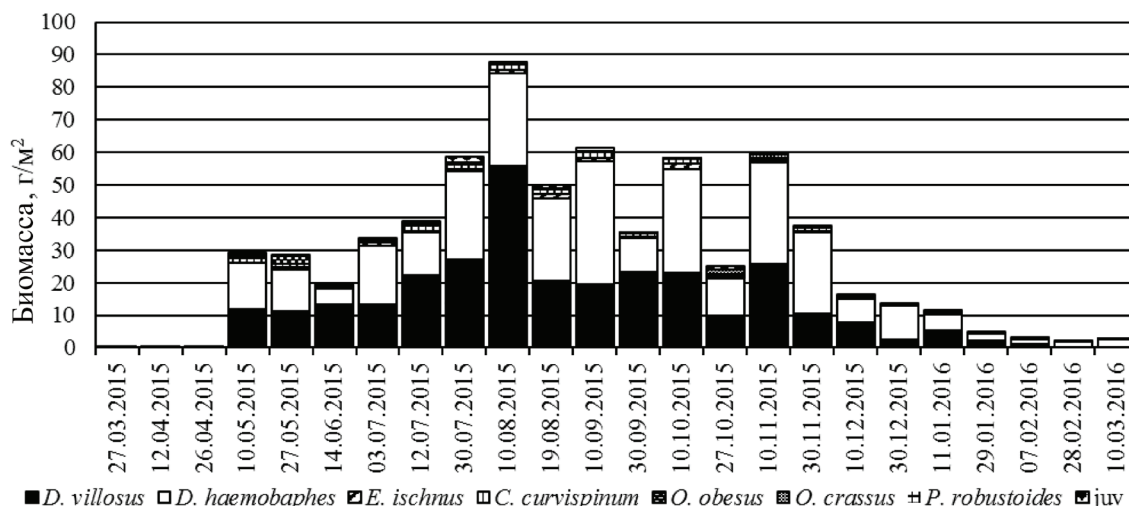


Рис. 2. Биомасса чужеродных видов амфипод в р. Сож, п. Ченки, в 2015–2016 гг.
 Fig. 2. The biomass of alien species amphipods in the Sozh River, v. Chenki, in 2015–2016

отсутствие ювенильных особей первого возраста, снижение общей плотности и биомассы до 410 экз/м² и 2,69 г/м² соответственно.

Соотношение полов – один из важных показателей состояния популяций и их жизненного цикла. Преобладание в популяциях самок свидетельствует о стабильности развития и воспроизводства [29]. У исследуемых амфипод соотношение самцов и самок было неодинаковым в различные сезоны года (табл. 1) и у разных видов. Средние сезонные показатели для всех видов показывают, что самки преобладают в основном в летне-осенний период и относительная их численность снижается к зиме, весной соотношение близко к единице. По обобщенным данным, соотношение полов за год составляет 1,37, что в целом согласуется с литературными сведениями о преобладании самок над самцами в популяциях амфипод [15, 16]. Полученные нами данные для отдельных видов не всегда совпадают с литературными. У наиболее распространенных и имеющих более крупные размеры *D. haemobaphes* и *D. villosus* (табл. 2) среднегодовые значения близки к единице, а изменение этого соотношения по сезонам у этих видов антагонистическое. Так, этот показатель у *D. haemobaphes* растет в течение года, а у *D. villosus* наименьшие значения наблюдаются зимой. В литературных источниках утверждается, что в пресноводных популяциях *D. haemobaphes* [13, 29] и *D. villosus* [12] всегда преобладают самки. Для *C. curvispinum* и *E. ischnus* среднее соотношение полов за год составило 1,64 и 1,37, что не противоречит литературным данным [15, 16]. Соотношение самок к самцам у *O. crassus* в репродуктивный период было равно 2:1, а зимой, наоборот, самцы доминировали над самками. Согласно результатам ряда исследований, в Кременчугском водохранилище [29] в популяциях этого вида всегда преобладали самцы, что противоречит полученным нами данным. Изменения в соотношении полов в целом для амфипод и отдельных популяций пока мало изучены и не всегда объяснимы. Так как это популяции с пополнением в течение года, то это соотношение зависит от количества генераций и изменяющегося в течение года размерного состава.

Данные об изменении размера особей в популяциях в разные сезоны года и определенное по этому показателю число генераций приведены в табл. 2. Установлено, что средний размер тела самцов и самок уменьшается от весны к осени, что подтверждается и в других публикациях для *D. haemobaphes* [13], *D. villosus* [30], *P. robustoides* [14], *E. ischnus*, *O. crassus* и *O. obesus* [29]. Считается, что снижение средних размеров

Таблица 1. Соотношение полов (♀/♂) в популяциях гаммарид

Table 1. The sex ratio (♀/♂) in gammaride populations

Вид	Весна	Лето	Осень	Зима	Среднее
<i>C. curvispinum</i>	1,22	1,59	2,37	1,37	1,64
<i>D. haemobaphes</i>	0,59	1,14	1,18	1,26	1,04
<i>D. villosus</i>	1,11	1,31	0,85	0,6	0,97
<i>E. ischnus</i>	1,17	1,41	1,28	1,63	1,37
<i>O. obesus</i>	1,03	1,81	1,67	2,67	1,80
<i>O. crassus</i>	–	2,00	2,00	0,57	1,52
Среднее	1,02	1,54	1,56	1,35	1,37

особей и более раннее наступление половозрелости служат приспособительной реакцией понтотаспийцев для быстрого увеличения численности [31]. В целом по изменению размерного состава в течение года не удалось установить даже приблизительное число поколений в течение вегетационного периода.

Т а б л и ц а 2. Показатели средних размеров тела самцов и самок гаммарид в различные сезоны

T a b l e 2. The average body size of males and females of gammarids in different seasons

Вид	Весна		Лето		Осень		Зима	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
<i>C. curvispinum</i>	4,5 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,3 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,2 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,1
<i>D. haemobaphes</i>	11,3 ± 0,9	11,6 ± 1,1	9,7 ± 0,3	10,7 ± 0,4	8,9 ± 0,4	10,5 ± 0,5	7,4 ± 0,3	7,9 ± 0,3
<i>D. villosus</i>	13,3 ± 0,7	18,5 ± 2,6	11,3 ± 0,4	12,3 ± 0,5	9,6 ± 0,5	10,8 ± 0,7	9,9 ± 0,9	11,1 ± 0,9
<i>E. ischnus</i>	6,2 ± 0,4	7,2 ± 0,4	6,4 ± 0,2	6,9 ± 0,3	6,1 ± 0,2	6,3 ± 0,3	5,7 ± 0,3	6,5 ± 0,4
<i>O. obesus</i>	9,1 ± 0,7	10,8 ± 0,8	6,8 ± 0,3	7,4 ± 0,5	5,8 ± 0,9	6,6 ± 1,4	5,7 ± 1,1	7,8 ± 1,4
<i>O. crassus</i>	–	–	7,1	7,4	5,6 ± 0,9	7,2 ± 1,8	6,6 ± 1,6	7,8 ± 1,5

Для установления особенностей жизненного цикла проведен анализ изменения численности основных возрастных групп, а также относительных значений для наиболее показательных групп: яйценосных самок и молоди. По данным табл. 3, интенсивность процессов размножения бокоплавов в различные сезоны года неодинакова. Наибольший процент яйценосных самок для всех видов амфипод отмечен в весенний период (61,5 %), а к осени их относительная доля снижается (17,3 %). Среди всех видов выделяются *D. haemobaphes* и *O. obesus*, у которых среднегодовые значения составляют 40,4 и 38,2 % соответственно. За весь период размножения средний показатель количества яйценосных самок составляет порядка 35,1 %. Это ниже, чем в Кременчугском водохранилище (52,7 %) [29], но схоже со среднегодовыми значениями (около 40 %), отмечаемыми в менее прогреваемых водах рек Польши и Германии [12, 15, 16].

Т а б л и ц а 3. Сезонные изменения количества яйценосных самок в популяциях гаммарид

T a b l e 3. Seasonal changes in the number of oviparous females in gammarid populations

Вид	Весна			Лето			Осень			Среднее
	♀	♀ _{яиц}	%	♀	♀ _{яиц}	%	♀	♀ _{яиц}	%	
<i>C. curvispinum</i>	67	35	52,2	432	118	27,3	213	37	17,4	32,3
<i>D. haemobaphes</i>	23	18	78,3	232	74	31,9	95	12	12,6	40,4
<i>D. villosus</i>	20	13	65,0	274	56	20,4	28	5	17,9	32,3
<i>E. ischnus</i>	41	22	53,7	220	52	23,6	39	8	20,5	32,1
<i>O. obesus</i>	28	15	53,6	87	21	24,1	–	–	–	38,2
Среднее	–	–	61,5	–	–	25,5	–	–	17,3	35,1

Более детальный анализ изменения численности яйценосных самок и ювенильных особей в течение года проведен отдельно для каждого из изученных видов (рис. 3). Появление яйценосных самок *C. curvispinum* совпадало с присутствием в водоеме ювенильных особей в последней декаде апреля. Минимальная плотность яйценосных самок первой генерации (0,8 экз/м²) наблюдается в конце апреля, максимальная – приурочена к первой декаде мая (350 экз/м²). Следующее увеличение численности размножающихся особей наблюдается в июле–августе, оно более растянуто по времени и менее выражено. Период размножения завершается к концу сентября, и уже 10.10.2016 г. при температуре 9,7 °С размножающихся особей не наблюдается. У ювенильных особей отмечалось два основных двуворшинных пика численности, следующих после роста численности размножающихся самок. Незначительный рост численности молоди ранней весной происходит за счет миграции и концентрации животных на более прогреваемых прибрежных биотопах. Для *C. curvispinum* можно выделить два пика размножения, приходящихся на май и июль–август (рис. 3).

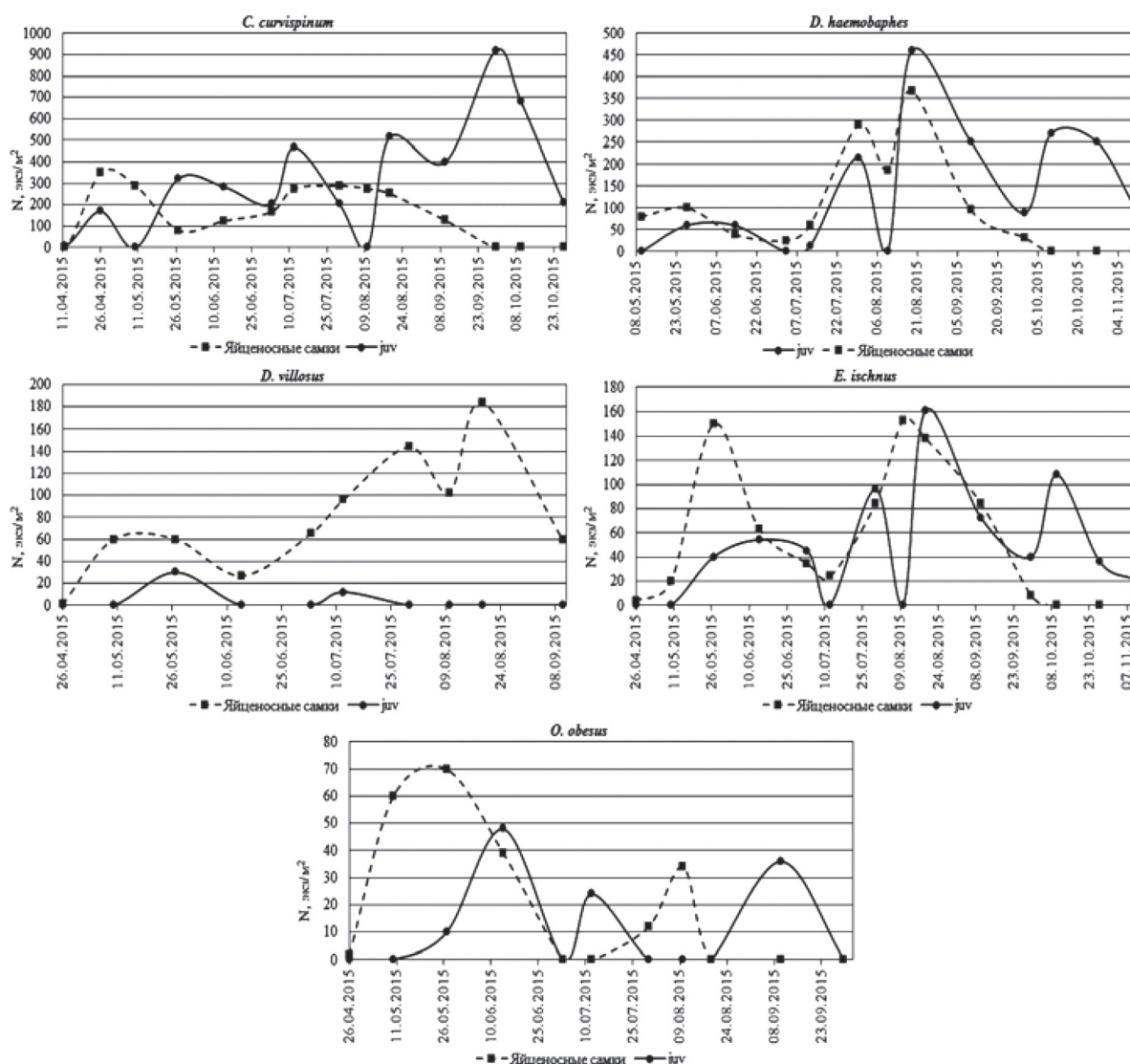


Рис. 3. Количество поколений за один год у чужеродных видов амфипод
 Fig. 3. Number generations per year in alien species amphipods

В течение всего периода размножения относительная численность яйценосных самок *D. haemobaphes* значительно менялась. Можно выделить весенний и летний пики, при этом летний пик двухвершинный, что усложняет определение количества генераций. Ювенильные особи встречались с конца мая по начало ноября, и по динамике их численности можно с уверенностью констатировать наличие трех генераций (рис. 3). С середины августа отмечалось снижение численности яйценосных самок (вплоть до их полного исчезновения).

По нашим наблюдениям, яйценосные самки *D. villosus* встречались с конца апреля по середину сентября, что согласуется с литературными данными для пресноводных популяций этого вида [12, 13, 30]. По изменению численности размножающихся особей (рис. 3) можно выделить три генерации с наиболее выраженным весенним пиком. Абсолютная и относительная численность ювенильных особей *D. villosus* хотя и была низкой, но в целом соответствовала аналогичному показателю у яйценосных самок.

Яйценосные самки *E. ischnus* присутствовали в популяции с конца апреля по конец сентября, а ювенильные особи – с конца мая по октябрь. По динамике численности яйценосных самок можно с определенной долей уверенности говорить о наличии двух генераций. Наличие же 4 пиков у молодых особей затрудняет определение этого параметра (рис. 3). Однако, если объединить июньский и июльский, августовский и сентябрьский всплески численности и рассматривать

их как две генерации, то по изменению плотности ювенильных особей можно предположить наличие двух пиков размножения. По литературным данным, размножение у этого вида начинается раньше, чем у других понто-каспийских видов, но репродуктивный период короче: уже в сентябре яйценосных самок не отмечено [12, 16, 29], что согласуется с полученными нами данными.

Яйценосные самки *O. obesus* отмечены с конца апреля до середины августа, хотя, согласно приведенным в работе [29] данным, могут встречаться и в осенний период. Несмотря на низкие количественные показатели *O. obesus*, в динамике численности яйценосных самок наблюдается два хорошо выраженных пика (рис. 3). Изменения относительной численности молоди показывают три пика численности. Учитывая малочисленность вида, для него в условиях Беларуси можно отметить 2–3 генерации.

Яйценосных самок и ювенильных особей *O. crassus* в течение года не обнаружено, поэтому репродуктивные показатели для этого вида не определяли, а приводили только литературные данные.

Т а б л и ц а 4. Основные характеристики жизненного цикла чужеродных видов амфипод

Table 4. The main characteristics of the life cycle of alien species amphipods

Вид	Продолжительность периода размножения, мес.		К-во генераций в году	
	Собств. данные	Лит. данные	Собств. данные	Лит. данные
<i>C. curvispinum</i>	4,5	5 [31]	2–3	2 [31]
<i>E. ischnus</i>	4,5	8 [12, 29, 32]	2–3	2 [12, 29, 32]
<i>D. villosus</i>	4,5	11 [12, 32]	2–3	3 [12, 32]
<i>D. haemobaphes</i>	4,5	5,5–6 [13, 29, 31, 32]	3	3 [13, 29, 31, 32]
<i>O. crassus</i>	–	7 [29, 32]	–	3 [29, 32]
<i>O. obesus</i>	3,5	5 [31]	2–3	2 [31]

В период размножения у чужеродных видов в условиях Беларуси наблюдается 2–3 генерации, что мало отличается от литературных данных для пресноводных водоемов со сходными экологическими условиями. Установленные сроки размножения в 2015–2016 гг. составили 4,5 мес. для большинства чужеродных видов, за исключением *O. obesus*, у которого этот период на месяц меньше (табл. 4). Приводимая в литературных источниках большая длительность размножения [12, 13, 29, 31, 32], вероятнее всего, обусловлена более высокой температурой и большей продолжительностью теплого периода года. В южных водохранилищах Днепра процесс размножения у *D. haemobaphes* приходится на лето и длится 7 мес. [29], как и в низовьях Волги [33]. Процессы размножения в более сжатые сроки в условиях водотоков Беларуси могут рассматриваться как адаптация чужеродных видов к выживанию в новых условиях, что требует дальнейшего изучения.

Заключение. На основании круглогодичного изучения динамики численности и биомассы 6 чужеродных видов в биотопах их совместного обитания впервые для территории Беларуси установлены сроки размножения и количество генераций этих видов за репродуктивный период. Все виды приступают к размножению при температуре 7,3–11,9 °С и заканчивают его осенью при температуре 9,7 °С. Минимальные значения численности и биомассы отмечены в марте – 2,4 экз/м² и 0,018 г/м² соответственно. Начало интенсивного увеличения численности приурочено к маю. Максимальные значения показателей численности и биомассы отмечены в августе – 7521 экз/м² и 87,781 г/м² соответственно.

Продолжительность периода размножения для 5 изученных чужеродных видов на территории Беларуси оказалась короче, чем в других частях ареала: для *C. curvispinum* – в 1,1 раза, для *E. ischnus* – в 1,8, для *D. villosus* – в 2,4, для *D. haemobaphes* – в 1,3, для *O. obesus* – в 1,4. При более коротком репродуктивном периоде для всех 5 видов гаммарид отмечено наличие 2–3 генераций в течение года, что указывает на широкие адаптивные возможности этих видов.

У 6 видов (*C. curvispinum*, *D. villosus*, *O. crassus*, *O. obesus*, *E. ischnus* и *D. haemobaphes*) в соотношении полов в течение года с разной степенью преобладают самки, что свидетельствует о стабильности развития популяций.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам Научно-практического центра Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам В. В. Вежновец и В. П. Семенченко. Работа частично поддержана грантом БРФФИ № В18М-094.

Acknowledgements. The author is deeply grateful to colleagues from the Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources V. V. Vezhnavecs and V. P. Semenchenko. This work was partially supported by the grant of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research no. B18M-094.

Список использованных источников

1. Биологические инвазии в водных и наземных экосистемах / под ред. А. Ф. Алимова, Н. Г. Богуцкой. – М. : Тов. науч. изд. КМК, 2004. – 436 с.
2. Nehring, S. International shipping – a risk for aquatic biodiversity in Germany / S. Nehring // *NeoBiota*. – 2005. – N 6. – P. 125–143.
3. Nehring, S. The Ponto-Caspian amphipod *Obesogammarus obesus* (Sars, 1894) arrived the Rhine River via the Main-Danube Canal / S. Nehring // *Aquatic Invasions*. – 2006. – Vol. 1, N 3. – P. 148–153. <https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.3.9>
4. Panov, V. E. Aquatic Invasions – the new European journal of applied research on biological invasions in aquatic ecosystems / V. E. Panov, S. Gollasch // *Aquatic Invasions*. – 2006. – Vol. 1, N 1. – P. 1–3. <https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.1.1>
5. Chandra, S. Invasive species in aquatic ecosystems: Issue of global concern / S. Chandra, A. Gerhardt // *Aquatic Invasions*. – 2008. – Vol. 3, N 1. – P. 1–2. <https://doi.org/10.3391/ai.2008.3.1.1>
6. Березина, Н. А. Инвазии высших ракообразных (Crustacea: Malacostraca) в водах Финского залива (Балтийское море) / Н. А. Березина, В. В. Петряшев // *Рос. журн. биол. инвазий*. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 2–19.
7. Alien macrocrustaceans in freshwater ecosystems in the eastern part of Flanders (Belgium) / M. Messiaen [et al.] // *Belg. J. Zool.* – 2010. – Vol. 140, N 1. – P. 30–39.
8. Курашов, Е. А. Первое обнаружение понто-каспийской инвазивной амфиподы *Chelicorophium curvispinum* (G. O. Sars, 1895) (Amphipoda, Crustacea) в Ладожском озере / Е. А. Курашов, М. А. Барбашова, В. Е. Панов // *Рос. журн. биол. инвазий*. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 62–72.
9. Мордухай-Болтовской, Ф. Д. Каспийская фауна в Азово-Черноморском бассейне / Ф. Д. Мордухай-Болтовской. – М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1960. – 288 с.
10. Инвазивные амфиподы как фактор трансформации экосистемы Ладожского озера / Е. А. Курашов [и др.] // *Рос. журн. биол. инвазий*. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 87–104.
11. Семенченко, В. П. Чужеродные виды понто-каспийских амфипод (Crustacea, Amphipoda) в бассейне реки Днепр (Беларусь) / В. П. Семенченко, В. В. Вежновец, Т. П. Липинская // *Рос. журн. биол. инвазий*. – 2013. – Т. 6, № 3. – С. 88–97.
12. Kley, A. Life history characteristics of the invasive freshwater gammarids *Dikerogammarus villosus* and *Echinogammarus ischnus* in the river Main and the Main-Donau canal / A. Kley, G. Maier // *Archiv für Hydrobiologie*. – 2003. – Vol. 156, N 4. – P. 457–469. <https://doi.org/10.1127/0003-9136/2003/0156-0457>
13. Bacela, K. Reproductive biology of *Dikerogammarus haemobaphes*: an invasive gammarid (Crustacea: Amphipoda) colonizing running waters in Central Europe / K. Bacela, A. Konopacka, M. Grabowski // *Biol. Invasions*. – 2009. – Vol. 11, N 9. – P. 2055–2066. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9496-2>
14. Bacela, K. The life history of *Pontogammarus robustoides*, an alien amphipod species in polish waters / K. Bacela, A. Konopacka // *J. Crustacean Biol.* – 2005. – Vol. 25, N 2. – P. 190–195. <https://doi.org/10.1651/C-2519>
15. Van den Brink, F. W. B. Ecological aspects, explosive range extension and impact of a mass invader, *Corophium curvispinum* Sars, 1895 (Crustacea: Amphipoda), in the Lower Rhine (The Netherlands) / F. W. B. van den Brink, G. van der Velde, A. bij de Vaate // *Oecologia*. – 1993. – Vol. 93, N 2. – P. 224–232. <https://doi.org/10.1007/bf00317675>
16. Konopacka, A. Life history of *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1898) (Amphipoda) from artificially heated Lichenskie lake (Poland) / A. Konopacka, K. Jesionowska // *Crustaceana*. – 1968. – Vol. 68, N 3. – P. 341–349. <https://doi.org/10.1163/156854095x00520>
17. The profile of a ‘perfect’ invader – the case of killer shrimp, *Dikerogammarus villosus* / T. Rewicz [et al.] // *Aquatic Invasions*. – 2014. – Vol. 9, N 3. – P. 267–288. <https://doi.org/10.3391/ai.2014.9.3.04>
18. 10-year monitoring of alien amphipods in Belarus: state of the art / T. Lipinskaya [et al.] // *Biodiversity J.* – 2017. – Vol. 8, N 2. – P. 649–651.
19. Вежновец, В. В. Мониторинг водных беспозвоночных / В. В. Вежновец, Ю. Г. Гигиняк, В. И. Разлуцкий // *Мониторинг животного мира Беларуси (основные принципы и результаты)* / под общ. ред. Л. М. Сушени, В. П. Семенченко. – Минск, 2005. – С. 33–57.
20. Определитель фауны Черного и Азовского морей : Свободноживущие беспозвоночные : в 3 т. / Акад. наук УССР, Ин-т биологии юж. морей. – Киев : Наук. думка, 1969. – Т. 2 : Ракообразные / сост. : М. Бэческу [и др.] ; под общ. руковод. Ф. Д. Мордухай-Болтовского. – 536 с.
21. Eggers, T. Key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany / T. Eggers, A. Martens // *Lauterbornia*. – 2001. – N 42. – P. 1–68.

22. Осветительная установка для микроскопа бинокулярного стереоскопического : полез. модель ВУ 10705 / А. И. Макаренко, В. В. Вежновец, Т. В. Макаренко. – Опубл. 30.06.2015.
23. Светодиодное устройство освещения микроскопической техники с изменяемым спектром свечения : полез. модель ВУ 10668 / А. И. Макаренко, Т. В. Макаренко. – Опубл. 30.06.2015.
24. Асочаков, А. А. К методике измерения длины тела амфипод / А. А. Асочаков // Гидробиол. журн. – 1993. – Т. 29, № 2. – С. 90–94.
25. Способ определения длины криволинейного биологического микрообъекта: заявка ВУ 20140604 / А. И. Макаренко, В. В. Вежновец. – Опубл. 14.11.2014.
26. Макаренко, А. И. Распространение чужеродных и аборигенных видов амфипод в Брестской и Гомельской областях / А. И. Макаренко // Трансграничное сотрудничество в области экологической безопасности и охраны окружающей среды : материалы III Междунар. науч.-практ. конф. / Гомел. гос. ун-т ; редкол.: В. В. Валетов [и др.]. – Гомель, 2014. – С. 283–286.
27. Иоффе, Ц. И. Обогащение кормовой базы для рыб в водохранилищах СССР путем акклиматизации беспозвоночных / Ц. И. Иоффе // Изв. гос. НИИ озерного и речного рыб. хоз-ва. – 1974. – Т. 100. – С. 3–226.
28. Борткевич, Л. В. Экология и продукция *Corophium curvispinum* G.O. Sars из устьевых областей рек северо-западного Причерноморья / Л. В. Борткевич // Гидробиол. журн. – 1987. – Т. 23, № 6. – С. 91–93.
29. Курандина, Д. П. Некоторые данные о размножении и плодовитости Каспийских гаммарид в Кременчугском водохранилище / Д. П. Курандина // Гидробиол. журн. – 1975. – Т. 11, № 5. – С. 35–41.
30. Pöckl, M. Strategies of a successful new invader in European fresh waters: fecundity and reproductive potential of the Ponto-Caspian amphipod *Dikerogammarus villosus* in the Austrian Danube, compared with the indigenous *Gammarus fossarum* and *G. roeseli* / M. Pöckl // Freshwater Biology. – 2007. – Vol. 52, N 1. – P. 50–63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01671.x>
31. Курина, Е. М. Чужеродные виды амфипод (Amphipoda, Gammaridea) в составе донных сообществ Куйбышевского и Саратовского водохранилищ: особенности распространения и стратегий жизненных циклов / Е. М. Курина // Рос. журн. биол. инвазий. – 2017. – Т. 10, № 2. – С. 69–80.
32. Grabowski, M. How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea) – comparison of life history traits / M. Grabowski, K. Bacela, A. Konopačka // Hydrobiologia. – 2007. – Vol. 590, iss. 1. – P. 75–84. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0759-6>
33. Курина, Е. М. Чужеродные виды донных сообществ Куйбышевского и Саратовского водохранилищ: состав, распространение и биология массовых видов : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10 / Е. М. Курина ; Ин-т экологии Волж. бассейна РАН. – Астрахань, 2014. – 24 с.

References

1. Alimov A. F., Bogutskaya N. G. (ed.). *Biological invasions in aquatic and terrestrial ecosystems*. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2004. 436 p. (in Russian).
2. Nehring S. International shipping – a risk for aquatic biodiversity in Germany. *NeoBiota*, 2005, no. 6, pp. 125–143.
3. Nehring S. The Ponto-Caspian amphipod *Obesogammarus obesus* (Sars, 1894) arrived the Rhine River via the Main-Danube Canal. *Aquatic Invasions*, 2006, vol. 1, no. 3, pp. 148–153. <https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.3.9>
4. Panov V. E., Gollasch S. Aquatic Invasions – the new European journal of applied research on biological invasions in aquatic ecosystems. *Aquatic Invasions*, 2006, vol. 1, no. 1, pp. 1–3. <https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.1.1>
5. Chandra S., Gerhardt A. Invasive species in aquatic ecosystems: Issue of global concern. *Aquatic Invasions*, 2008, vol. 3, no. 1, pp. 1–2. <https://doi.org/10.3391/ai.2008.3.1.1>
6. Berezina N. A., Petryashev V. V. The invasions of higher crustaceans (Crustacea: Malacostraca) in the waters of the Gulf of Finland (the Baltic Sea). *Russian Journal of Biological Invasions*, 2012, vol. 3, no. 2, pp. 81–91. <https://doi.org/10.1134/S2075111712020038>
7. Messiaen M., Lock K., Gabriels W., Vercauteren T., Wouters K., Boets P., Goethals P. Alien macrocrustaceans in freshwater ecosystems in the eastern part of Flanders (Belgium). *Belgian Journal of Zoology*, vol. 140, no. 1, pp. 30–39.
8. Kurashov E. A., Barbashova M. A., Panov V. E. First finding of Ponto-Caspian invasive amphipod *Chelicorophium curvispinum* (G.O. Sars, 1895) (Amphipoda, Crustacea) in Lake Ladoga. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2010, vol. 1, no. 4, pp. 282–287. (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S2075111710040053>
9. Mordukhai-Boltovskoi F. D. *Caspian fauna in the Azov-Black Sea basin*. Moscow, Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 1960. 288 p. (in Russian).
10. Kurashov E. A., Barbashova M. A., Barkov D. V., Rusanov A. G., Lavrova M. S. Invasive amphipods as a factor of transformation of Ladoga lake ecosystems. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2012, vol. 3, no. 3, pp. 202–212. <https://doi.org/10.1134/S2075111712030058>
11. Semenchenko V. P., Vezhnovec V. V., Lipinskaya T. P. Alien species of the Ponto-Caspian amphipods (Crustacea, Amphipoda) in the Dnieper river basin (Belarus). *Russian Journal of Biological Invasions*, 2013, vol. 4, no. 4, pp. 269–275. <https://doi.org/10.1134/S2075111713040097>
12. Kley A., Maier G. Life history characteristics of the invasive freshwater gammarids *Dikerogammarus villosus* and *Echinogammarus ischnus* in the river Main and the Main-Donau canal. *Archiv für Hydrobiologie*, 2003, vol. 156, no. 4, pp. 457–470. <https://doi.org/10.1127/0003-9136/2003/0156-0457>
13. Bacela K., Konopačka A., Grabowski M. Reproductive biology of *Dikerogammarus haemobaphes*: an invasive gammarid (Crustacea: Amphipoda) colonizing running waters in Central Europe. *Biological Invasions*, 2009, vol. 11, no. 9, pp. 2055–2066. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9496-2>

14. Bacela K., Konopacka A. The life history of *Pontogammarus robustoides*, an alien amphipod species in polish waters. *Journal of Crustacean Biology*, 2005, vol. 25, no. 2, pp. 190–195. <https://doi.org/10.1651/C-2519>
15. Van den Brink, F. W. B., van der Velde G., Bij de Vaate F. Ecological aspects, explosive range extension and impact of a mass invader, *Corophium curvispinum* Sars, 1895 (Crustacea: Amphipoda), in the Lower Rhine (The Netherlands). *Oecologia*, 1993, vol. 93, no. 2, pp. 224–232. <https://doi.org/10.1007/bf00317675>
16. Konopacka A., Jesionowska K. A. Life history of *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1898) (Amphipoda) from artificially heated Lichenskie lake (Poland). *Crustaceana*, 1968, vol. 68, no. 3, pp. 341–349. <https://doi.org/10.1163/156854095x00520>
17. Rewicz T., Grabowski M., MacNeil C., Baćela-Spychalska K. The profile of a “perfect” invader – the case of killer shrimp. *Aquatic Invasions*, 2014, vol. 9, no. 3, pp. 267–288. <https://doi.org/10.3391/ai.2014.9.3.04>
18. Lipinskaya T., Makarenko A., Semenchenko V., Vezhnovets V. 10-year monitoring of alien amphipods in Belarus: state of the art. *Biodiversity Journal*, 2017, vol. 8, no. 2, pp. 649–651.
19. Vezhnovets V. V., Giginyak Yu. G., Razlutskiy V. I. Monitoring of the animal world of Belarus (basic principles and results. *Monitoring zhivotnogo mira Belarusi (osnovnye printsipy i rezul'taty)* [Monitoring of the animal world of Belarus (basic principles and results)]. Minsk, 2005, pp. 33–57 (in Russian).
20. *Determinant of the fauna of the Black and Azov seas: Free-living invertebrates. Vol. 2. Crustaceans*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1969. 536 p. (in Russian).
21. Eggers T. O., Martens F. Bestimmungsschlüssel der Süßwasser-Amphipoda (Crustacea) Deutschlands. Key to the freshwater Amphipoda (Crustacea) of Germany. *Lauterbornia*, 2001, no. 42, pp. 1–68 (in German).
22. Makarenko A. I., Vezhnovets V. V., Makarenko T. V. *Lighting system for a binocular stereoscopic microscope*. 2015. Utility model BY 10705 (in Russian).
23. Makarenko A. I., Makarenko T. V. *LED lighting device for microscopic technology with variable spectrum of luminescence*. 2015. Utility model BY 10668 (in Russian).
24. Asochakov A. A. Technique for measuring body length of amphipods. *Gidrobiologicheskii zhurnal* [Hydrobiological Journal], 1993, vol. 29, no. 2, pp. 90–94 (in Russian).
25. Makarenko A. I., Vezhnovets V. V. *Method for determining the length of a curvilinear biological microobject*. 2014. Application BY 20140604 (in Russian).
26. Makarenko A. I. Distribution of alien and native species of amphipods in the Brest and Gomel regions. *Transgraničnoe sotrudnichestvo v oblasti ekologicheskoi bezopasnosti i okhrany okruzhayushchei sredy : materialy III Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* [Transboundary cooperation in the field of environmental safety and environmental protection: proceedings of the III International scientific and practical conference]. Gomel, 2014, pp. 283–286 (in Russian).
27. Ioffe C. I. Enrichment of the fodder base for fish in the reservoirs of the USSR by acclimatization of invertebrates. *Izvestiya Gosudarstvennogo nauchno-issledovatel'skogo instituta ozernogo i rechnogo rybnogo khozyaistva* [Proceedings of the State Research Institute of Lake and River Fisheries], 1974, vol. 100, pp. 3–226 (in Russian).
28. Bortkevich L. V. Ecology and production *Corophium curvispinum* G. O. Sars from the mouths of the rivers of the north-western Black Sea coast. *Gidrobiologicheskii zhurnal* [Hydrobiological journal], 1987, vol. 23, no. 6, pp. 91–93 (in Russian).
29. Kurandina D. P. Some data on the reproduction and fecundity of the Caspian Gammarids in the Kremenchug Reservoir. *Gidrobiologicheskii zhurnal* [Hydrobiological journal], 1975, vol. 11, no. 5, pp. 35–41 (in Russian).
30. Pöckl M. Strategies of a successful new invader in European fresh waters: fecundity and reproductive potential of the Ponto-Caspian amphipod *Dikerogammarus villosus* in the Austrian Danube, compared with the indigenous *Gammarus fossarum* and *G. roeseli*. *Freshwater Biology*, 2007, vol. 52, no. 1, pp. 50–63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01671.x>
31. Kurina E. M. Alien species of amphipods (Amphipoda, Gammaridea) in the bottom communities of the Kuybyshev and Saratov reservoirs: Features of distribution and life cycle strategies. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2017, vol. 8, no. 3, pp. 251–260. <https://doi.org/10.1134/s2075111717030080>
32. Grabowski M., Bacela K., Konopacka A. How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea) – comparison of life history traits. *Hydrobiologia*, 2007, vol. 590, no. 1, pp. 75–84. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0759-6>
33. Kurina E. M. *Alien species of bottom communities of Kuibyshev and Saratov reservoirs: composition, distribution and biology of mass species*. Abstract Ph. D. diss. Astrakhan', 2014. 24 p. (in Russian).

Информация об авторе

Макаренко Андрей Игоревич – магистр биол. наук, науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amakarenko198989@mail.ru

Information about the author

Andrei I. Makaranka – Master of Biology, Scientific researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amakarenko198989@mail.ru

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

УДК 664.769+663.03+579.6+577.15
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-82-91>

Поступила в редакцию 18.07.2018
Received 18.07.2018

**Е. Н. Урбанчик¹, Л. И. Сапунова², М. Н. Галдова¹, А. И. Малашенко¹,
И. О. Тамкович², И. В. Мороз², А. Н. Павлюк²**

¹Могилевский государственный университет продовольствия, Могилев, Республика Беларусь

²Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ ПРОРОЩЕННОГО ЗЕРНОВОГО СЫРЬЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ

Аннотация. Обоснованы режимы ферментативной обработки зерна пшеницы продовольственной и гороха продовольственного с целью интенсификации процесса получения проростков. Проращивание зерна в оптимизированных условиях предполагает применение на стадии замачивания ферментных препаратов целлюлолитического (целлюлаза, ксиланаза, β -глюканаза) и амилолитического действия в концентрации 0,005 % в течение 3 ч, причем для получения проростков пшеницы наиболее эффективными из исследованных препаратов являются Вискоферм (Novozymes, Дания) и Комплиферм (Институт микробиологии НАН Беларуси), для получения проростков гороха – Вискоферм (Novozymes, Дания). В результате ферментативной обработки длительность процесса проращивания зерна пшеницы по сравнению с контролем сокращается в среднем на 2–4 ч, семян гороха – на 4–5 ч. Применение данной технологии позволяет увеличить выход проростков и повысить рентабельность их производства.

Ключевые слова: зерно пшеницы и гороха, ферментативная обработка, проростки, получение биологически активного сырья

Для цитирования: Интенсификация процесса получения пророщенного зернового сырья с использованием ферментных препаратов комплексного действия / Е. Н. Урбанчик [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 82–91. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-82-91>

**E. M. Ourbantchik¹, L. I. Sapunova², M. M. Galdova¹, A. I. Malashenko¹, I. A. Tamkovich²,
I. V. Maroz², A. M. Pauliuk²**

¹Mogilev State University of Food Technologies, Mogilev, Republic of Belarus

²Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

INTENSIFICATION OF GRAIN SPROUTING PROCESS USING COMPLEX ENZYME PREPARATIONS

Abstract. The regimes were grounded for enzymatic treatment of food wheat and peas grain to intensify seedling production. Optimization of grain germination process envisages application at the steeping stage of cellulolytic enzyme preparations (cellulase, xylanase, β -glucanase) and amylolytic enzymes in 0.005 % concentrations during 3 h. The highest efficiency among tested biopreparations for wheat sprouting was shown by Viscoferm (Novozymes, Denmark) and Compliferm (Institute of Microbiology, NAS Belarus), whereas Viscoferm proved the most active in terms of peas germination. Enzymatic treatment results in reduced duration of wheat grain sprouting by 2–4 h, pea seed sprouting by 4–5 h on the average, and increased seedlings yield, raising thereby profitability of the process.

Keywords: wheat and pea grain, enzymatic treatment, seedlings, production of bioactive feedstock

For citation: Ourbantchik E. M., Sapunova L. I., Galdova M. M., Malashenko A. I., Tamkovich I. A., Maroz I. V., Pauliuk A. M. Intensification of grain sprouting process using complex enzyme preparations. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 82–91 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-82-91>

Введение. В современных условиях развитие пищевой промышленности невозможно без внедрения новых технологий, основанных на принципах рационального использования сырьевых ресурсов, безопасности, высокой пищевой и биологической ценности продукции [1]. Особенно это касается хлебобулочного и кондитерского производства, где в последнее время все более широкое применение находит нетрадиционное сырье – проростки семян зерновых, крупяных и бобовых культур [2–6].

Зерно характеризуется высоким содержанием белка, витаминов, полифенолов, минералов и других биологически активных веществ, которые обладают антиоксидантной, противовоспалительной, антибактериальной, противоопухолевой активностью и играют важную роль в поддержании здоровья и в профилактике ряда заболеваний человека [7–12]. При естественном проращении содержание полезных веществ, находящихся в семенах в сбалансированных количествах и соотношениях, в относительно короткие сроки существенно возрастает в результате синтеза *de novo* или трансформации [6, 11, 13–15].

Известно стимулирующее действие ферментов, гидролизующих полимеры растительной клеточной стенки, на проращение семян растений. Использование экзогидролаз различного способа действия и субстратной специфичности в технологии проращивания существенно сокращает длительность процесса, экономит материальные и энергетические ресурсы, увеличивает выход проростков, повышает качество проростков и изготовленных на их основе продуктов [16–19]. Например, обработка ферментными препаратами ксиланолитического действия улучшает технологические характеристики, повышает содержание макро- и микроэлементов, снижает энергетическую ценность мучных кондитерских изделий, изготовленных из пророщенного зерна пшеницы и гречихи [4, 5]. Таким образом, проращивание зерна (в том числе с использованием ферментов) как простой, дешевый и экологически безопасный процесс – важный биотехнологический тренд в области создания и производства продуктов питания высоких потребительских достоинств. При постоянно растущем спросе на пророщенное зерно и содержащие его продукты [20, 21] все еще нерешенными остаются вопросы, касающиеся технологии проращивания, микробиологической безопасности и качества готовой продукции.

Цель исследования – оценка эффективности использования ферментных препаратов различного компонентного состава в процессе проращивания семян гороха продовольственного и пшеницы продовольственной, произрастающих на территории Республики Беларусь.

Материалы и методы исследования. Для проведения экспериментов были отобраны 32 образца семян пшеницы продовольственной 3-го класса и 24 образца гороха продовольственного сорта Миллениум (по 20 г в каждом из образцов). Проращивание зернового сырья проводили водно-воздушным способом при температуре 25 ± 2 °С (контроль), а также с добавлением одного из ферментных препаратов различного компонентного состава (см. таблицу) в концентрации 0,001–0,08 % к весу зерна (опыт). Семена пшеницы и гороха промывали холодной (10 ± 2 °С) водопроводной водой и замачивали. Процесс проращивания контролировали визуально и завершали при содержании в образцах не менее 75 % зерен пшеницы и 85 % зерен гороха с длиной ростков, не превышающей соответственно 2 и 3 мм.

Компонентный состав и активность ферментных препаратов
Composition and activity of enzyme preparations

Ферментный препарат (производитель)	Состав и активность ферментов, ед/мл (ед/г)					
	α-Амилаза	Глюкоамилаза	Протеаза	β-Глюканаза	Ксиланаза	Целлюлаза
Сахзайм Плюс 2X (Novozymes, Дания)	374	22 312	–	–	–	–
Вискоферм (Novozymes, Дания)	625	–	–	2 217	2 313	64
Комплиферм (Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь)	46	–	–	1 337	1 450	152
Дельтазим APS 2X (BASF, США)	–	–	176	–	–	–
Дельтазим VR RX (BASF, США)	–	–	–	–	5 547	–

В ферментных препаратах, применяемых в процессе проращивания семян пшеницы и гороха, общепринятыми методами определяли активность альфа- и глюкоамилазы (крахмал растворимый, 30 °С, рН 5,0) [22], протеазы (казеинат натрия, 30 °С, рН 7,0) [23], β-глюканазы (β-глюкан ячменя, 40 °С, рН 5,0), целлюлазы (натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, 40 °С, рН 5,0) и ксиланазы (ксилан березовый, 40 °С, рН 5,0) [24].

За единицу активности принимали количество фермента, при действии которого на соответствующий субстрат за 1 мин в условиях проведения реакции образуется 1 мкмоль продукта. Активность ферментов выражали в условных единицах – в 1 мл (ед/мл) или в 1 г (ед/г) препарата.

При оптимизации условий ферментативной обработки зерна выполняли двухфакторный (длительность прорастания – концентрация ферментных препаратов) эксперимент, в котором выходным параметром являлся показатель активности роста – критерий, комплексно характеризующий процесс прорастания [25].

Активность роста зерна ($\% \cdot \text{ч}^{-1}$) определяли по формуле $A_p = k_n / \tau_n$, где k_n – количество проросших зерен с длиной ростка не более 2 мм для пшеницы и не более 3 мм для гороха, $\%$; τ_n – длительность прорастания зерна, ч [25].

Приведенные результаты представляют собой усредненные данные 2–3 опытов, выполненных в трех повторностях. При статистической обработке результатов рассчитывали доверительные интервалы среднего арифметического для уровня вероятности 0,05, используя пакет программ Microsoft Excel. Разность средних величин считали достоверной при отсутствии перекрытия их доверительных интервалов.

Результаты и их обсуждение. Согласно данным литературы, применение ферментов в процессе проращивания семян зерновых культур сопровождается не только существенным сокращением технологического цикла производства пророщенного зерна, экономией материальных и энергетических ресурсов, но и улучшением качества готового продукта. Так, для получения проростков ячменя использовали ферментные препараты микробного происхождения с различным соотношением α -амилазной, β -глюканазной, целлюлазной, гемицеллюлазной и протеазной активности [26, 27]. Согласно полученным данным, применение препарата АПсубтилин П (0,1 % к массе зерна в 0,1 %-ном растворе CaCl_2) на стадии замачивания зерна приводит к сокращению процесса проращивания, повышению амилолитической, осаживающей и протеолитической активности проростков соответственно в 3,2; 7,5 и 3 раза. Кроме того, содержание в них редуцирующих веществ увеличивается на 30 %, аминного азота – на 43 % [16, 27]. По мнению исследователей, в результате действия ферментов повышается проницаемость семенной оболочки зерна, что приводит к увеличению притока воды и более полному гидролизу эндосперма.

В технологии производства проростков ячменя испытаны также ферментные препараты Нейтраза 1,5 MG (Novozymes, Дания), Глюкозим New (Энде Индастриал Корпорейшн) и Биоглюканаза B10L (Quest, Нидерланды), стандартизованные по экзо- и эндо- β -глюканазной, амилазной, протеазной, глюкоамилазной или пуллулазанной активности. Показано, что добавление в замочную воду ферментных препаратов или их мультиэнзимной композиции (соотношение биоглюканазы, глюкозима и нейтразы – 2:50:20) в количестве 0,1 % к массе зерна существенно сокращает продолжительность процесса. Полученный продукт характеризуется высокой амилолитической, протеолитической и цитолитической активностью, повышенным содержанием аминокислот, гексоз и пентоз [28, 29].

Результаты исследований российских ученых также свидетельствуют об эффективности применения препарата целлюлолитического действия Целловиридин Г20х (Россия) для детоксикации семян пшеницы, ржи и тритикале [30]. Ферментативная обработка (0,05–0,1 % к массе зерна) на стадии замачивания зерна пшеницы (10–16 ч, pH 5,0, 45–50 °C) снижает содержание в нем свинца на 69,8 %, кадмия – на 85,3, никеля – на 63,3 %. Установлено, что процесс мацерации некрахмальных полисахаридов, сопровождающийся десорбцией связанных с ними ионов тяжелых металлов, происходит в основном за счет деструкции гемицеллюлоз с образованием растворимых продуктов гидролиза – олиго- и моносахаридов.

Обнаружено также, что обработка ферментными препаратами ксиланолитического действия (40 °C, 2 ч) пророщенных зерен пшеницы и гречихи позволяет сохранить органолептические и физико-химические показатели изготовленных с их использованием мучных кондитерских изделий, улучшить технологические характеристики продуктов, повысить содержание в них макро- и микроэлементов, снизить энергетическую ценность [4, 5].

Полученные нами экспериментальные данные, отражающие влияние ферментных препаратов на количество проросших зерен пшеницы и гороха, активность их роста и длительность процесса прорастания, приведены на рис. 1.

Анализ показал, что влияние ферментных препаратов на процесс проращивания зерна определяется как составом, так и количеством составляющих их компонентов. Обнаружено, что все исследованные ферментные комплексы в различной мере стимулируют прорастание зерна

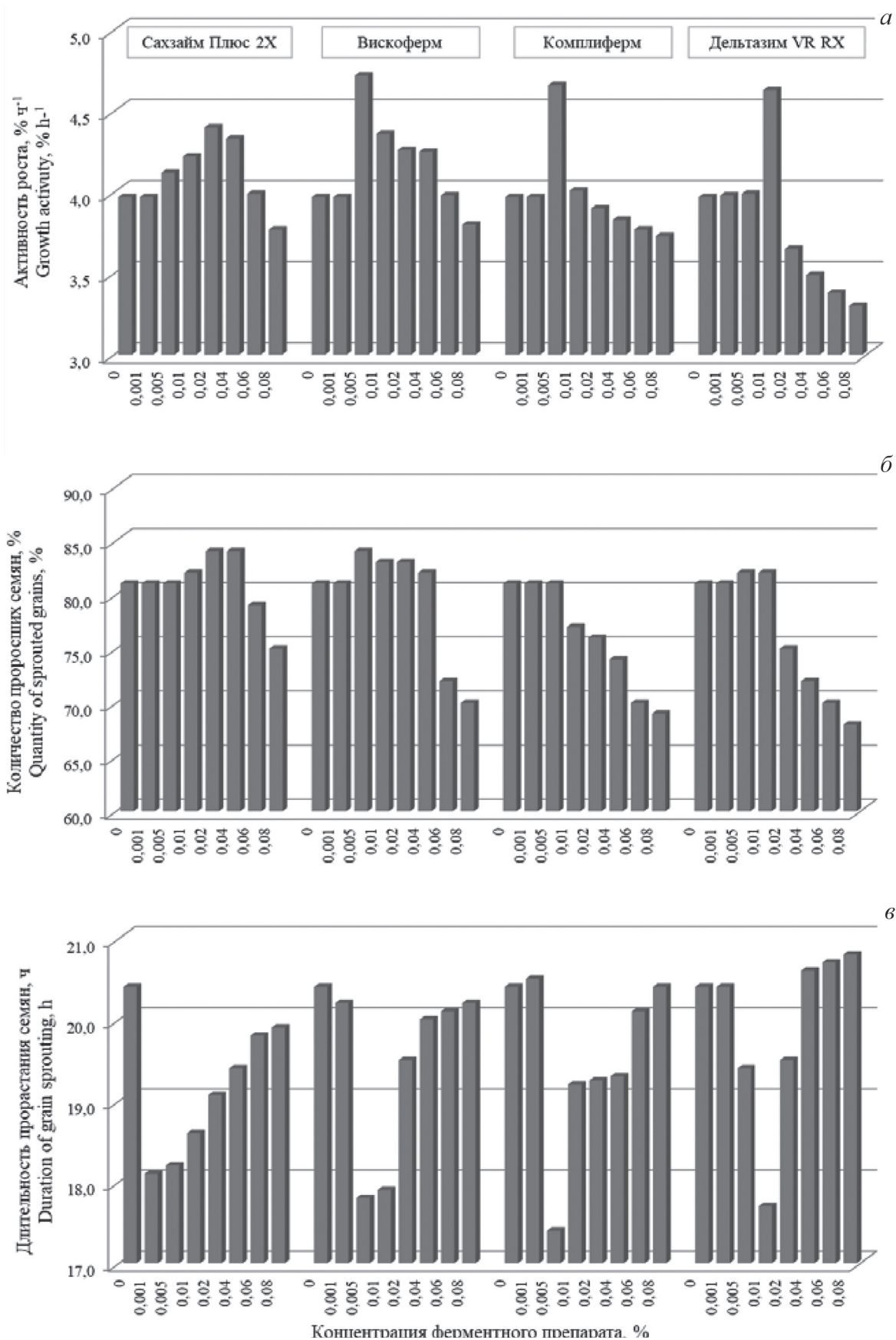


Рис. 1. Влияние ферментных препаратов на прорастание зерна пшеницы

Fig. 1. Effect of enzyme preparations on wheat grain sprouting

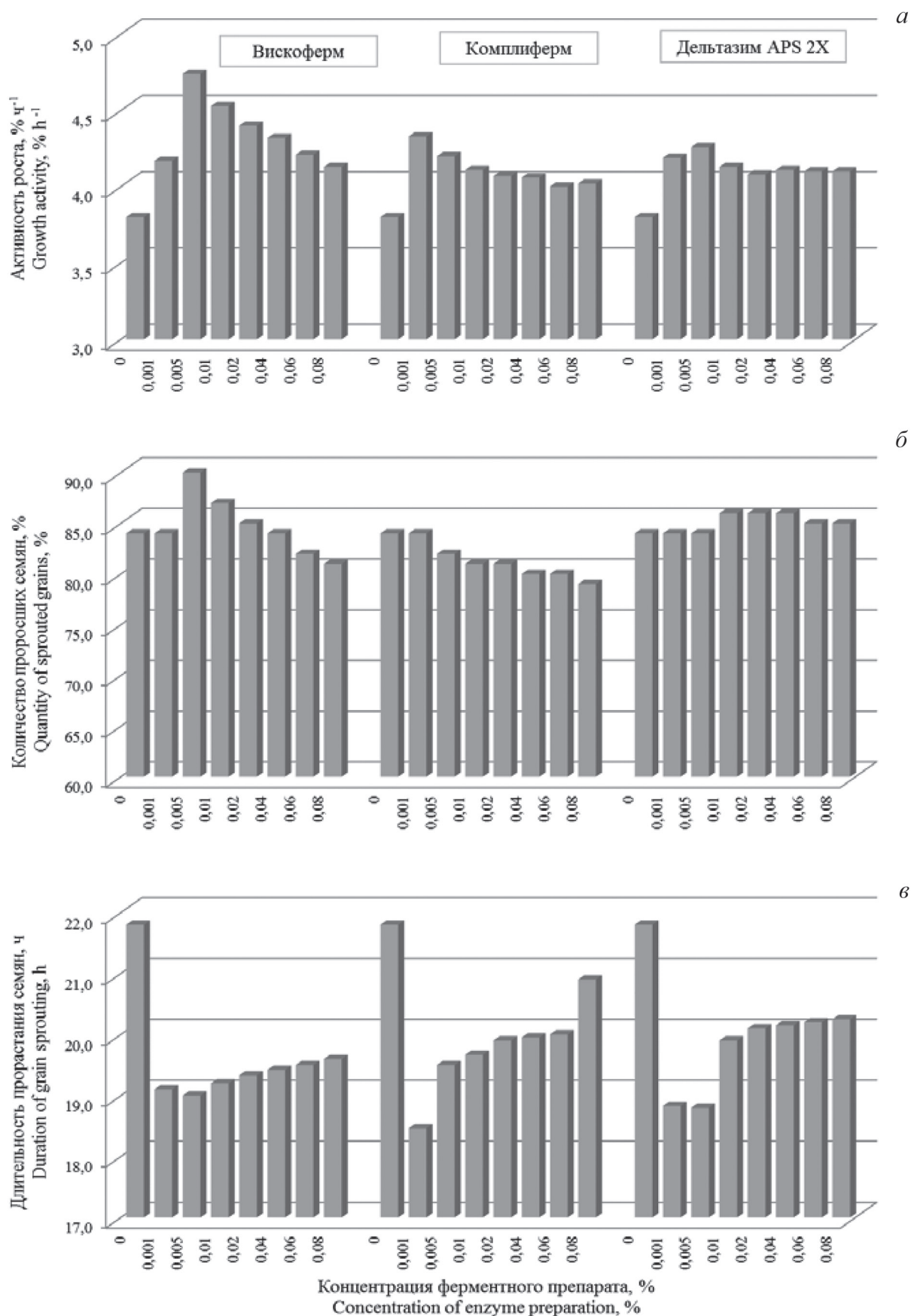


Рис. 2. Влияние ферментных препаратов на прорастание зерна гороха
Fig. 2. Effect of enzyme preparations on pea grain sprouting

пшеницы, однако максимальный положительный эффект оказывает препарат Вискоферм, обладающий целлюлазной, ксиланазной, β-глюканазной и амилазной активностью. При его использовании в количестве 0,005 % к весу сырья активность роста зерна пшеницы достигает 4,72 %·ч⁻¹, что в 1,2 раза превышает контрольный показатель (рис. 1, а). При этом на 3 ч сокращается длительность процесса (рис. 1, в) и незначительно (от 81 по 84 %) повышается доля проросших семян (рис. 1, б).

Сравнимый с Вискофермом эффект в аналогичной концентрации оказывает препарат отечественного производства Комплиферм, в составе которого также содержатся β-глюканаза, ксиланаза, целлюлаза и α-амилаза. В то же время эффективная концентрация препарата ксиланолитического действия Дельтазим VR RX для достижения указанных выше показателей, количественно характеризующих процесс получения проростков, составляет 0,01 %. Слабо выраженное положительное влияние на прораствание зерна пшеницы оказывает препарат амилолитического действия Сахзайм Плюс 2X в дозе 0,02–0,04 %.

Таким образом, для интенсификации процесса прораствания зерна пшеницы рекомендуются комплексные ферментные препараты Вискоферм (Novozymes, Дания) или Комплиферм (Институт микробиологии НАН Беларуси) в концентрации 0,005 % к весу сырья.

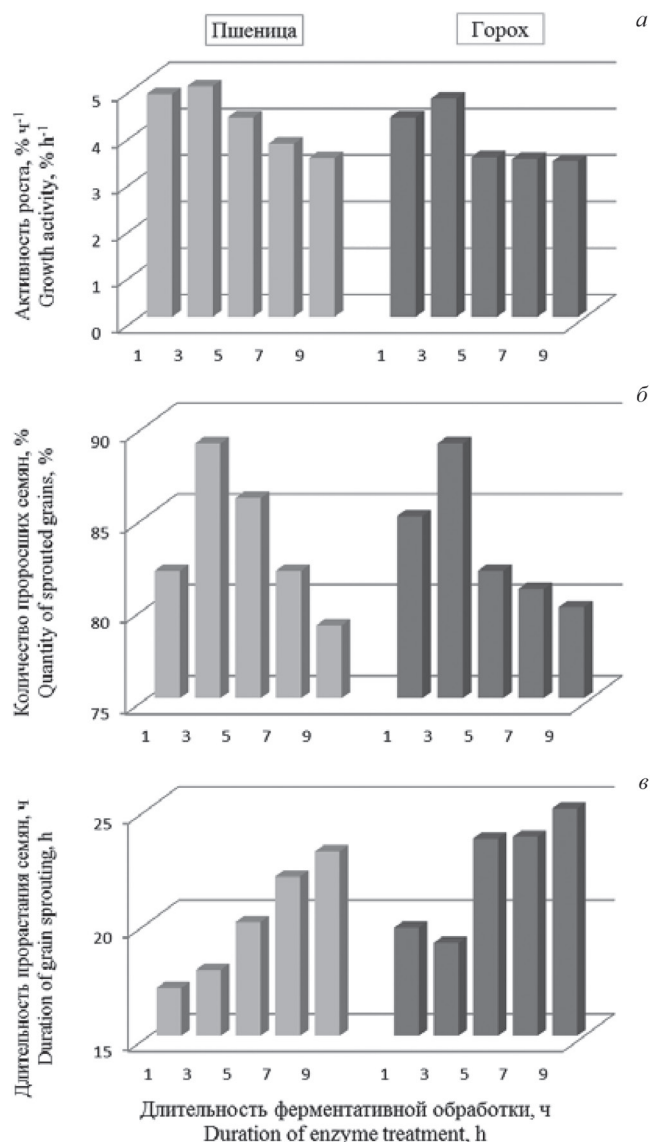


Рис. 3. Влияние длительности ферментативной обработки на показатели процесса получения проростков пшеницы и гороха

Fig. 3. Effect of enzyme treatment duration on parameters of wheat and pea grain sprouting process

Результаты исследований, касающиеся влияния дозы ферментных препаратов на прорастание семян гороха, обобщены на рис. 2.

Согласно представленным данным, при использовании в процессе проращивания всех исследуемых ферментных препаратов активность роста зерна гороха превышает контрольный показатель, составляющий $3,80 \text{ \%}\cdot\text{ч}^{-1}$, однако максимальной величины ($4,74 \text{ \%}\cdot\text{ч}^{-1}$) достигает только при обработке семян ферментным препаратом Вискоферм (комплекс целлюлазы, ксиланазы, β -глюканызы, α -амилазы) в концентрации $0,005 \text{ \%}$ (рис. 2, а). В этом случае на 6 \% повышается также и выход проростков – 90 \% против 84 \% по сравнению с контролем (рис. 2, б).

Препараты Дельтазим APS 2X (протеаза) и Комплиферм (целлюлаза, ксиланаза, β -глюканыза, α -амилаза) оказывают существенно меньшее влияние на процесс проращивания семян гороха: при их ферментативной обработке в дозе соответственно $0,005$ и $0,001 \text{ \%}$ показатель активности роста составляет $4,26$ и $4,33 \text{ \%}\cdot\text{ч}^{-1}$. При этом в обоих случаях количество проросших семян сопоставимо с контрольным показателем (рис. 2, а, б).

Оптимизацию длительности (1, 3, 5, 7 и 9 ч) ферментативной обработки зерна пшеницы и гороха проводили с использованием ферментного препарата Вискоферм (Novozymes, Дания) в установленной для него оптимальной дозе – $0,005 \text{ \%}$ к весу зернобобового сырья. Как следует из данных, приведенных на графике (рис. 3), максимальные показатели активности роста зерна пшеницы и гороха, составляющие соответственно $4,97$ и $4,70 \text{ \%}\cdot\text{ч}^{-1}$, наблюдаются через 3 ч воздействия ферментного препарата (рис. 3, а). При указанной длительности ферментативной обработки отмечается также и максимальный выход пророщенного зерна обеих исследуемых культур (рис. 3, б), который достигается через 17,1 и 19,1 ч проращивания пшеницы и гороха соответственно (рис. 3, в).

Таким образом, при использовании ферментного препарата Вискоферм (Novozymes, Дания) в минимальной испытанной концентрации ($0,005 \text{ \%}$) в течение 3 ч длительность процесса проращивания зерна пшеницы в среднем сокращается на 2–4 ч, семян гороха – на 4–5 ч, что значительно снижает материальные и энергетические затраты на производство.

Закключение. В результате проведенных исследований обоснованы режимы ферментативной обработки зерна пшеницы и гороха, приводящие к интенсификации процесса получения проростков. Проращивание зерна в оптимизированных условиях предполагает применение на стадии его замачивания ферментных препаратов целлюлолитического (целлюлаза, ксиланаза, β -глюканыза) и амилолитического действия в концентрации $0,005 \text{ \%}$ в течение 3 ч. При получении проростков пшеницы наибольший эффект оказывают ферментные препараты Вискоферм (Novozymes, Дания) и Комплиферм (Институт микробиологии НАН Беларуси), при проращивании гороха – Вискоферм (Novozymes, Дания). В результате ферментативной обработки длительность процесса проращивания зерна пшеницы по сравнению с контролем сокращается в среднем на 2–4 ч, семян гороха – на 4–5 ч, увеличивается выход проростков и, соответственно, повышается рентабельность их производства. Полученные результаты, касающиеся использования биокатализаторов в процессе проращивания зернобобовых культур, будут учтены при разработке опытно-промышленной технологии получения проростков – биологически активного сырья для производства продуктов функционального питания.

Дальнейшие исследования будут нацелены на сравнительную характеристику пищевых и биологических достоинств зерна, пророщенного традиционным и ферментативным способами.

Список использованных источников

1. Исследования влияния зерновых заквасок на основе пророщенных зерен и семян нетрадиционного растительного сырья на качество ржано-пшеничных видов хлеба / Т. Г. Богатырева [и др.] // Хлебопекарное производство в России: вызовы и стратегии рынка : материалы докл. XII Междунар. конф., Москва, 28–30 нояб. 2016 г. / Междунар. промышл. акад. : ред. совет : В. А. Бутковский [и др.]. – М., 2016. – С. 26–29.
2. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking / L. Alvarez-Jubete [et al.] // Food Chem. – 2010. – Vol. 119, N 2. – P. 770–778. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.032>
3. Mondor, M. Processing, characterization and bread-making potential of malted yellow peas / M. Mondor, E. Guévremont, S. Villeneuve // Food Biosci. – 2014. – Vol. 7. – P. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2014.05.002>

4. Богатырева, Т. Г. Использование ферментированных гидролизатов зеленой гречихи и пшеницы в рецептуре дрожжевого кекса / Т. Г. Богатырева, И. Г. Белявская, К. Н. Валуева // Хлебопекарное производство в России: вызовы и стратегии рынка : материалы докл. XII Междунар. конф., Москва, 28–30 нояб. 2016 г. / Междунар. промышл. акад. ; ред. совет : В. А. Бутковский [и др.]. – М., 2016. – С. 21–26.
5. Богатырева, Т. Г. Ферментативные гидролизаты пророщенных зерен пшеницы и гречихи для повышения пищевой ценности дрожжевого кекса / Т. Г. Богатырева, И. Г. Белявская, К. Н. Валуева // Кондитер. производство. – 2017. – № 1. – С. 26–29.
6. Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination / J. Barazelli [et al.] // LWT. – 2018. – Vol. 90. – P. 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.070>
7. Selhub, J. B vitamins and the aging brain / J. Selhub, A. Troen, I. H. Rosenberg // Nutrition Rev. – 2010. – Vol. 68. – P. S112–S118. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00346.x>
8. Shohag, M. J. I. Changes of folate and other potential health-promoting phytochemicals in legume seeds as affected by germination / M. J. I. Shohag, Y. Y. Wei, X.E. Yang // J. Agr. Food Chem. – 2012. – Vol. 60, N 36. – P. 9137–9143. <https://doi.org/10.1021/jf302403t>
9. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview / I. Hayat [et al.] // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2014. – Vol. 54, N 5. – P. 580–592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>
10. Luthria, D. L. Bioactive phytochemicals in wheat: extraction, analysis, processing, and functional properties / D. L. Luthria, Y. Lu, K. M. M. John // J. Functional Foods. – 2015. – Vol. 18, pt. B. – P. 910–925. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.001>
11. Cereal grain fructans: Structure, variability and potential health effects / J. Verspreet [et al.] // Trends Food Sci. Technol. – 2015. – Vol. 43, N 1. – P. 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.01.006>
12. Dynamic changes in phytochemical composition and antioxidant capacity in green and black mung bean (*Vigna radiata*) sprouts. Int. / R. Y. Gan [et al.] // Int. J. Food Sci. Technol. – 2016. – Vol. 51, N 9. – P. 2090–2098. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13185>
13. Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by *in vitro* and *in vivo* techniques / G. Urbano [et al.] // Nutrition. – 2005. – Vol. 21, N 2. – P. 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.04.025>
14. Effects of enzyme activities during steeping and sprouting on the solubility and composition of proteins, their bioactivity and relationship with the bread making quality of wheat flour / S. Žilić [et al.] // Food Funct. – 2016. – Vol. 7, N 10. – P. 4323–4331. <https://doi.org/10.1039/c6fo01095d>
15. Quality attributes of whole-wheat flour tortillas with sprouted whole-wheat flour substitution / T. Liu [et al.] // LWT. – 2017. – Vol. 77. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.017>
16. Казакова, Е. А. Проращивание ячменя с применением хлорида кальция и ферментного препарата / Е. А. Казакова, Г. А. Ермолаева // Пиво и напитки. – 2004. – № 2. – С. 30–31.
17. Киселева, Т. Ф. Использование ферментных препаратов при получении ржаного солода / Т. Ф. Киселева, А. Н. Кроль // Продукты питания и рациональное использование сырьевых ресурсов : сб. науч. работ / редкол. : Л. А. Маюрикова (отв. ред.) [и др.]. – Кемерово, 2005. – Вып. 9. – С. 42–45.
18. Ржаной солод: применение, свойства, способы интенсификации производства / Л. И. Сапунова [и др.] // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / Ин-т микробиологии НАН Беларуси [и др.] ; ред. : Э. И. Коломиец [и др.]. – Минск, 2009. – Т. 2. – С. 345–359.
19. Влияние культур бактерий *Bacillus* species и продуцируемых ими внеклеточных ферментов на прорастание семян кресс-салата / Л. И. Сапунова [и др.] // Мікробні біотехнології: актуальність і майбутнє: зб. матеріалів VIII Міжнар. конф. daRostim, Київ, 19–22 листопада 2012 р. – Київ, 2012. – С. 287–288.
20. Шаizzo, Р. И. Функциональные продукты питания / Р. И. Шаizzo, Г. И. Касьянов. – М. : Колос, 2000. – 246 с.
21. Зверев, С. В. Функциональные зернопродукты / С. В. Зверев, Н. С. Зверева. – М. : ДеЛи принт, 2006. – 118 с.
22. Препараты ферментные. Методы определения амилалитической активности: ГОСТ 20264-89 / Государственный Комитет СССР по стандартам. – М. : Изд-во стандартов, 1990. – 24 с.
23. Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности: ГОСТ 20264.2-88 / Государственный Комитет СССР по стандартам. – М. : Изд-во стандартов, 1988. – 11 с.
24. Препараты ферментные. Методика выполнения измерений β-глюкоканазной, ксиланазной, целлюлазной активностей: МВИ. МН 3235-2009. – Октябрьский, 2009. – 26 с.
25. Способ оптимизации проращивания зерна или семян по методу поэтапного воздушно-водяного замачивания : пат. 20250 С2 Респ. Беларусь / Е. Н. Урбанчик, А. Е. Шалюта; заявитель Могил. гос. ун-т прод. – № а 20130033; заявл. 30.06.2013; опубл. 30.08.2016 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2016. – № 4. – С. 77.
26. Получение пивоваренного солода с применением ферментного препарата Целловиридин Г20х / И. Н. Грибкова [и др.] // Прогрессивные пищевые технологии – третьему тысячелетию : тез. докл. Междунар. науч. конф., Краснодар, 19–22 сент. 2000 г. / Куб. гос. технол. ун-т ; редкол. : А. А. Петрик (гл. ред.) [и др.]. – Краснодар, 2000. – С. 101.
27. Казакова, Е. А. Интенсификация солодоращения с применением биокатализаторов при производстве светлого солода : автореф. дис. ... канд. тех. наук : 05.18.07 / Е. А. Казакова ; Моск. гос. ун-т пищевых пр-в. – М., 2005. – 26 с.
28. Применение биокатализаторов в солодоращении / Е. А. Казакова [и др.] // Молодые ученые пищевым и перерабатывающим отраслям АПК (технологические аспекты производства): тез. докл. науч.-техн. конф., 20–21 дек. 1999 г., Москва / Моск. гос. ун-т пищевых пр-в. – М., 1999. – С. 42–43.
29. Грибкова, И. Н. Разработка технологии темного солода с применением биокатализаторов : автореф. дис. ... канд. тех. наук : 05.18.07 / И. Н. Грибкова ; Моск. гос. ун-т пищевых пр-в. – М., 2006. – 26 с.

30. Кузнецова, Е. А. Распределение токсичных элементов в зерновом сырье и снижение их содержания при применении ферментных препаратов / Е. А. Кузнецова, Л. В. Черепнина, А. А. Щербакова // Успехи совр. естествознания. – 2007. – № 12. – С. 68–69.

References

1. Bogatyreva T. G., Belyavskaya I. G., Judina T. A., Adygeshaova M. M. Investigations of the impact of grain starters based on germinated seeds of non-conventional plant materials on the quality of rye-wheat kinds of bread. *Khlebopekarnoe proizvodstvo v Rossii: vyzovy i strategii rynka: materialy dokladov XII Mezhdunarodnoi konferentsii (Moskva, 28–30 noyabrya 2016 g.)* [Bakery production in Russia: challenges and market strategies: reports of the XII International conference (Moscow, November 28–30, 2016)]. Moscow, 2016, pp. 26–29 (in Russian).
2. Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E. K., Gallagher E. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 2010, vol. 119, no. 2, pp. 770–778. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.032>
3. Mondor M., Guévremont E., Villeneuve S. Processing, characterization and bread-making potential of malted yellow peas. *Food Bioscience*, 2014, vol. 7, pp. 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2014.05.002>
4. Bogatyreva T. G., Belyavskaya I. G., Valueva K. N. Application of enzymatic hydrolysates of green buckwheat and wheat in yeast cake recipes. *Khlebopekarnoe proizvodstvo v Rossii: vyzovy i strategii rynka: materialy dokladov XII Mezhdunarodnoi konferentsii (Moskva, 28–30 noyabrya 2016 g.)* [Bakery production in Russia: challenges and market strategies: reports of the XII International conference (Moscow, November 28–30, 2016)]. Moscow, 2016, pp. 21–26 (in Russian).
5. Bogatyreva T. G., Belyavskaya I. G., Valueva K. N. Enzymatic hydrolysates of germinated wheat and buckwheat seeds upgrading yeast cake value. *Konditerskoe proizvodstvo* [Confectionery production], 2017, no. 1, pp. 26–29 (in Russian).
6. Barazzelli J., Kringel D. H., Colussi R., Paiva F. F., Aranha B. C., de Miranda M. Z., da Rosa Zavareze E., Renato A., Dias G. Changes in enzymatic activity, technological quality and gamma-aminobutyric acid (GABA) content of wheat flour as affected by germination. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, vol. 90, pp. 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.070>
7. Selhub J., Troen A., Rosenberg I. H. B vitamins and the aging brain. *Nutrition Reviews*, 2010, vol. 68, pp. S112–S118. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00346.x>
8. Shohag M. J. I., Wei Y. Y., Yang X. E. Changes of folate and other potential health-promoting phytochemicals in legume seeds as affected by germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, vol. 60, no. 36, pp. 9137–9143. <https://doi.org/10.1021/jf302403t>
9. Hayat I., Ahmad A., Masud T., Ahmed A., Bashir S. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2014, vol. 54, no. 5, pp. 580–592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>
10. Luthria D. L., Lu Y., John K. M. M. Bioactive phytochemicals in wheat: extraction, analysis, processing, and functional properties. *Journal of Functional Foods*, 2015, vol. 18, pt. B, pp. 910–925. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.001>
11. Verspreet J., Dornez E., Van den Ende W., Delcour J. A., Courtin C. M. Cereal grain fructans: Structure, variability and potential health effects. *Trends in Food Science and Technology*, 2015, vol. 43, no. 1, pp. 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.01.006>
12. Gan R. Y., Wang M. F., Lui W. Y., Wu K., Corke H. Dynamic changes in phytochemical composition and antioxidant capacity in green and black mung bean (*Vigna radiata*) sprouts. *International Journal of Food Science and Technology*, 2016, vol. 51, no. 9, pp. 2090–2098. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13185>
13. Urbano G., López-Jurado M., Frejnagel S., Gómez-Villalva E., Porres J. M., Frías J., Vidal-Valverde C., Aranda P. Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by *in vitro* and *in vivo* techniques. *Nutrition*, 2005, vol. 21, no. 2, pp. 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.04.025>
14. Žilić S., Janković M., Barać M., Pešić M., Konić-Ristić A., Hadži-Tašković Šukalović V. Effects of enzyme activities during steeping and sprouting on the solubility and composition of proteins, their bioactivity and relationship with the bread making quality of wheat flour. *Food and Function*, 2016, vol. 7, no. 10, pp. 4323–4331. <https://doi.org/10.1039/c6fo01095d>
15. Liu T., Hou G. G., Cardin M., Marquart L., Dubat A. Quality attributes of whole-wheat flour tortillas with sprouted whole-wheat flour substitution. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, vol. 77, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.017>
16. Kazakova E. A., Ermolaeva G. A. Barley grain germination using calcium chloride and enzyme preparation. *Pivo i napitki* [Beer and drinks], 2004, no. 2, pp. 30–31 (in Russian).
17. Kiselyova T. F., Krol A. N. Application of enzyme preparations in rye malt production. *Produkty pitaniya i ratsional'noe ispol'zovanie syr'evykh resursov: sbornik nauchnykh rabot* [Food and rational use of raw materials: a collection of scientific papers]. Kemerovo, 2005, iss. 9, pp. 42–45 (in Russian).
18. Sapunova L. I., Tamkovich I. O., Lobanok A. G., Boikov V. P., Mazur A. M., Kotov M. I., Bolyanova M. I. Rye malt: application, properties and methods to intensify production. *Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sbornik nauchnykh trudov* [Microbial biotechnology: fundamental and applied aspects: a collection of scientific papers]. Minsk, 2009, vol. 2, pp. 345–359 (in Russian).
19. Sapunova L. I., Kartyzhova L. V., Pauliuk A. N., Yerhova L. V., Kruchyonok T. V. Effect of bacterial cultures of *Bacillus* species and the produced extracellular enzymes on cress seed germination. *Mikrobni biotekhnologii: aktual'nost' i maibutne: zbornik materialiv VIII Mizhnarodnoi konferentsii daRostim, Kiev, 19–22 listopada 2012 r.* [Microbial biotechnology: relevance and future: collection of materials of the 8th International conference daRostim, Kiev, November 19–22, 2012]. Kiev, 2012, pp. 287–288 (in Russian).

20. Shazzo R. I., Kas'yanov G. I. *Functional nutrition products*. Moscow, Kolos Publ., 2000. 246 p. (in Russian).
21. Zverev S. V., Zvereva N. S. *Functional grain products*. Moscow, DeLi print Publ., 2006. 118 p. (in Russian).
22. *State Standard 20264.4-89 Enzyme preparation. Methods of determining amylolytic activity*. Moscow, Standard Press Publ., 1990. 24 p. (in Russian).
23. *State Standard 20264.2-88 Enzyme preparation. Methods of evaluating proteolytic activity*. Moscow, Standard Press Publ., 1988. 11 p. (in Russian).
24. *Enzyme preparations. Methods of measuring β -glucanase, xylanase, cellulase activities: methodological guidelines, MVI.MN 3235-2009*. Oktyabrsky Press, 2009. 26 p. (in Russian).
25. Method of optimizing grain and seed germination by gradual aerial-aqueous steeping procedure: Patent of Belarus republic no 20250 C2 Belarus, inventors: E. N. Urbanchik, A. E. Shalyuta; filed by Mogilev State Food University applicant numbera 20130033, date of application 30.06.2013, published 30.08.2016. *Afityyny byuleten' Natsyonal'naga tsentra intelektual' nai ulasnasti* [Official Bulletin of the National Intellectual Property Center], 2016, no. 4, p. 77 (in Russian).
26. Gribkova I. N., Kazakova E. A., Ermolaeva G. A., Gernet M. V. Production of brewery malt using enzyme preparation Celloviridin G20x. *Progressivnye pishchevye tekhnologii – tret'emu tysyacheletiyu: tezisy dokladov Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Krasnodar, 19–22 sentyabrya 2000 g.)* [Advanced food technologies to the third millennium: abstracts of the International scientific conference (Krasnodar, September 19–22, 2000)]. Krasnodar, 2000, p. 101 (in Russian).
27. Kazakova E. A. *Acceleration of malting process by biocatalysts in the course of light malt production*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2005. 26 p. (in Russian).
28. Kazakova E. A., Gribkova I. N., Ermolaeva G. A., Gernet M. V. Application of biocatalysts for malt production. *Molodye uchenye – pishchevym i pererabatyvayushchim otraslyam APK (Tekhnologicheskie aspekty proizvodstva): tezisy dokladov nauchno-tekhnicheskoi konferentsii (Moskva, 20–21 dekabrya 1999 g.)* [Young scientists – food and processing industries of the agroindustrial complex (Technological aspects of production): abstracts of scientific and technical conferences (Moscow, December 20–21, 1999)]. Moscow, 1999, pp. 42–43 (in Russian).
29. Gribkova I. N. Elaboration of dark malt technology engaging biocatalysts Development of dark malt technology using biocatalysts. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2006, p. 26 (in Russian).
30. Kuznetsova E. A., Cherepnina L. V., Shherbakova A. A. Distribution of toxic elements in grain feedstock and reduction of their level using enzyme preparations. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* [Successes of modern science], 2007, no. 12, pp. 68–69 (in Russian).

Информация об авторах

Урбанчик Елена Николаевна – канд. техн. наук, доцент, директор. Могилевский государственный университет продовольствия (пр-т Шмидта, 3, 212027, Могилев, Республика Беларусь). E-mail: urbanchik@tut.by

Сапунова Леонида Ивановна – канд. биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonida@mbio.bas-net.by

Галдова Марина Николаевна – аспирант, начальник центра дистанционного обучения. Могилевский государственный университет продовольствия (пр-т Шмидта, 3, 212027, г. Могилев, Республика Беларусь). E-mail: ipkdist@tut.by

Малашенко Аlesia Игоревна – магистрант, лаборант. Могилевский государственный университет продовольствия (пр-т Шмидта, 3, 212027, г. Могилев, Республика Беларусь). E-mail: ipkdist@tut.by

Тамкович Ирина Олеговна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irina-kazakevich@tut.by

Мороз Ирина Викентьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irmorz@gmail.com

Павлюк Анастасия Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ana4ernaya@mail.ru

Information about the authors

Alena M. Ourbanchik – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Director. Mogilev State University of Food Technologies (3, Shmidt Ave., 212027, Mogilev, Republic of Belarus). E-mail: urbanchik@tut.by

Leanida I. Sapunova – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Chief researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonida@mbio.bas-net.by

Maryna M. Haldova – Postgraduate student, Head of the Center Distance Learning. Mogilev State University of Food Technologies (3, Shmidt Ave., 212027, Mogilev, Republic of Belarus). E-mail: ipkdist@tut.by

Alesia I. Malashenka – Postgraduate student, Assistant. Mogilev State University of Food Technologies (3, Shmidt Ave., 212027, Mogilev, Republic of Belarus). E-mail: ipkdist@tut.by

Iryna A. Tamkovich – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irina-kazakevich@tut.by

Iryna V. Maroz – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irmorz@gmail.com

Anastasya M. Pauliuk – Junior researcher. Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ana4ernaya@mail.ru

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

УДК 577.171.7
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-92-95>

Поступила в редакцию 26.11.2018
Received 26.11.2018

Н. А. Копылова, Ж. Н. Калацкая, Н. А. Ламан

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИНЕТИНА В КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ

Аннотация. Разработана воспроизводимая методика, позволяющая с достаточной степенью точности оценивать содержание кинетина в различных препаратах. Методика может быть использована для исследований в области физиологии и биохимии растений, в медицине и молекулярной биологии.

Ключевые слова: регуляторы роста, кинетин, высокоэффективная жидкостная хроматография

Для цитирования: Копылова, Н. А. Количественное определение кинетина в коммерческих препаратах методом ВЭЖХ / Н. А. Копылова, Ж. Н. Калацкая, Н. А. Ламан // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бiял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 92–95. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-92-95>

N. A. Kopylova, J. N. Kalatskaya, N. A. Laman

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

QUANTITATIVE DETERMINATION OF KINETIN IN COMMERCIAL PREPARATIONS BY HPLC

Abstract. A reproducible method has been developed that allows for a sufficient degree of accuracy to estimate the kinetin content in various preparations. The technique can be used for research in the field of plant physiology and biochemistry, medicine, and molecular biology.

Keywords: growth regulators, kinetin, high performance liquid chromatography

For citation: Kopylova N. A., Kalatskaya J. N., Laman N. A. Quantitative determination of kinetin in commercial preparations by HPLC. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 92–95 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-92-95>

Введение. Исследование цитокининов, которые представляют собой важнейшую группу фитогормонов, является весьма значимой областью физиологии и биохимии растений. Цитокинины играют основополагающую роль в процессах деления и стимуляции дифференциации клеток, образования хлорофиллов, созревания семян, репродуктивного развития, снятия апикального доминирования и т. д. Одним из наиболее перспективных синтетических аналогов, который может быть использован в качестве компонента для создания эффективных регуляторов роста декоративных и сельскохозяйственных растений, а также фармацевтических и косметических препаратов, является кинетин, который обладает высокой цитокининовой активностью. Впервые он был обнаружен в автоклавированных препаратах ДНК и идентифицирован как N⁶-фурфуриламинопурин. Природные цитокинины также являются N⁶-замещенными производными аденина [1]. Имеются данные, свидетельствующие о способности кинетина и других цитокининов уменьшать рост некоторых видов опухолевых клеток человека [2, 3]. В последние годы кинетин широко применяют при производстве косметики, замедляющей старение кожи [4, 5].

Рост рынка производства регуляторов роста растений (биостимуляторов), перспектива использования цитокининов в терапии злокачественных опухолей, а также его применения в составе антивозрастных косметических средств обусловили необходимость разработки данной методики.

Цель исследования – разработка воспроизводимой методики, позволяющей с достаточной степенью точности оценивать содержание кинетина в различных препаратах.

Материалы и методы исследования. *Оборудование:* хроматограф UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Германия) с насосом LPG-3400SD, автосамплером ACC-3000, детектором DAD-3000RS, C₁₈-колонкой Acclaim™120 (4,6×150 мм), размер частиц 5 мкм. Фильтры Whatman 0,2 мкм PP w/GMF 13 мм, картридж C₁₈ Sep-Pak (Waters Ass., Milford).

Реактивы: стандарт кинетина (Sigma-Aldrich, чистота 99,0 %), метанол (LiChrosolv., Merck), вода I типа (система очистки Merck Millipore), ортофосфорная кислота (Sigma-Aldrich, чистота более 99,0 %).

Приготовление стандартов: 0,04 г стандарта кинетина растворяли в воде, подкисленной ортофосфорной кислотой до pH 3,0, и доводили до 100 мл. Данный раствор использовали как исходный для приготовления пяти стандартных растворов от 4 до 400 мкг/мл. Все стандартные растворы фильтровали через мембрану с диаметром пор 0,45 мкм и использовали для анализа методом ВЭЖХ.

Подготовка образцов: жидкий препарат МАКРОФИТУМ (Регулятор роста растений «МАКРОФИТУМ, ВС», ТУ ВУ 100029064.007-2018) фильтровали под вакуумом через мембрану с диаметром пор 0,2 мкм (CHMLab Group) для избавления от бактериальной суспензии, затем пропускали через картридж C₁₈ Sep-Pak. Кинетин элюировали 10 мл смеси растворителей метанол:вода, подкисленная ортофосфорной кислотой до pH 3,0 (v/v 60:40), после чего пробу использовали для проведения анализа методом ВЭЖХ.

Условия ВЭЖХ-анализа. Для определения содержания кинетина использовали метод обращенно-фазовой ВЭЖХ в изократическом режиме. Состав подвижной фазы: метанол:вода, подкисленная ортофосфорной кислотой до pH 3,0 (v/v 40:60). Скорость потока 1 мл/мин, температура колонки 30 °С, объем инъекционной петли – 20 мкм.

Пик кинетина идентифицировали по сопоставлению времени удерживания с пиком стандарта, а также спектров поглощения стандарта и предполагаемого пика кинетина. Концентрацию кинетина определяли методом абсолютной калибровки. Калибровочную зависимость определяли по 5 точкам (4, 40, 100, 240, 400 мкг/мл), для каждой точки выполнено по 5 измерений.

Результаты и их обсуждение. Разработанная методика позволяет идентифицировать и количественно оценивать содержание кинетина в составе препаратов-регуляторов роста растений и других препаративных формах, где присутствует кинетин. Аналитические характеристики методики приведены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики методики определения кинетина методом ВЭЖХ

Table 1. Characteristics of the method for kinetin determining by HPLC

Время удерживания		Уравнение калибровочного графика	R ²	Диапазон линейности, мкг/мл	Предел детектирования, мкг/мл (S/N = 3)	Предел количественного определения, мкг/мл (S/N) = 10
Значение, мин	Отн. станд. отклонение, %					
3,72 ± 0,024	0,17	y = 0,092x - 0,1185	0,9998	4–400	0,1	1,0

Линейность отклика детектора оценивали, анализируя рабочие стандартные растворы различной концентрации. Пределы детектирования и количественного определения установлены путем подбора минимальных концентраций кинетина, при которых соотношения сигнал/шум (S/N) равны 3 и 10 соответственно.

В табл. 2 представлен анализ точности определения содержания кинетина методом добавок, когда к стандарту известной концентрации добавляется определенное количество того же вещества, после чего проводится анализ его суммарной концентрации. Известно, что аналитический метод является точным, если он дает правильное числовое значение для анализируемого вещества (масса или концентрация) и может быть описан как степень близости измерения к действительному значению [6].

Полученные данные свидетельствуют о пригодности данной методики, поскольку она позволяет с удовлетворительной степенью точности определять исследуемое вещество.

Т а б л и ц а 2. Метрологический анализ методики определения содержания кинетина методом добавок

T a b l e 2. Metrological analysis of technique of the kinetin content determination by the method of additives

Добавлено кинетина, мкг	Должно быть найдено, мкг	Найдено, мкг	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка	Отн. стандартное отклонение, %
50 + 0	50,0	50,86	0,56	0,25	1,0
50 + 85	135,0	135,53	2,16	0,97	1,5
50 + 195	245,0	243,54	2,23	0,99	1,0

Для оценки сходимости и воспроизводимости результатов были приготовлены три стандартных раствора различной концентрации. Результаты представлены в табл. 3. Для растворов с концентрациями 10, 35 и 100 мкг/мл сделано 14, 9 и 6 инъекций соответственно.

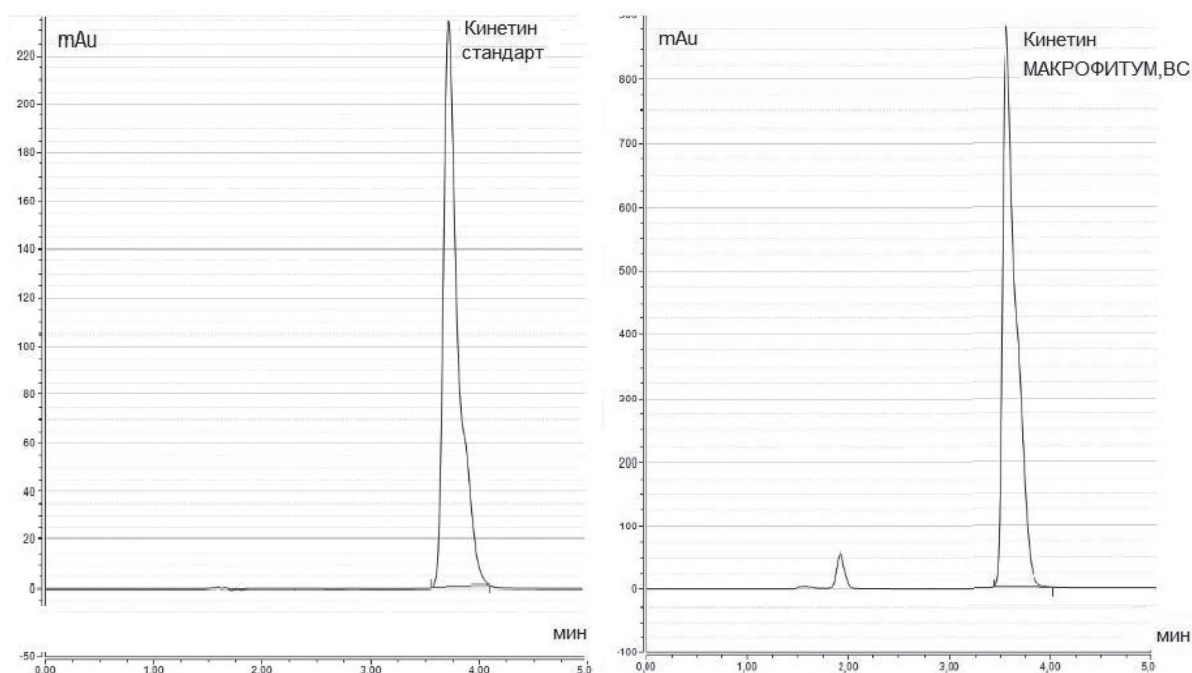
Т а б л и ц а 3. Воспроизводимость результатов анализа растворов стандарта кинетина различной концентрации

T a b l e 3. Reproducibility of results of analysis of standard kinetin solutions of different concentrations

Концентрация, мкг/мл	Площадь пика, мAu·мин	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка	Отн. стандартное отклонение, %
10	0,9706	0,0073	0,002	0,76
35	3,1192	0,0215	0,007	0,69
100	21,6559	0,06556	0,027	0,30

Относительное стандартное отклонение площадей пиков составило от 0,3 до 0,76 %, что соответствует требованиям, предъявляемым к точности биохимических анализов [7]. Для времени удерживания (t_R) стандарта кинетина эта величина составляет 0,17 % (см. табл. 1).

Анализ содержания кинетина в препарате МАКРОФИТУМ, ВС. Регулятор роста растений МАКРОФИТУМ, ВС (ТУ ВУ 100029064.007-2018) содержит ряд биологически активных соединений, одним из которых является кинетин. МАКРОФИТУМ предназначен для стимуляции роста и развития цветочных культур, увеличения количества бутонов и цветков на растении, усиления яркости и свежести окраски комнатных цветов, повышения декоративности цветущих клумб и газонов, ускорения зацветания и увеличения продолжительности цветения.



Хроматограммы стандарта кинетина и препарата МАКРОФИТУМ, ВС
The chromatograms of kinetin standard and drug MACROFITUM, VS

Нами проведен анализ препарата методом ВЭЖХ, идентифицирован пик кинетина по сопоставлению времени удерживания с пиком стандарта, а также спектров поглощения стандарта и предполагаемого пика кинетина. На рисунке представлены хроматограммы стандарта кинетина и препарата МАКРОФИТУМ, ВС.

Заклучение. В результате проведенных исследований разработана воспроизводимая методика, позволяющая с достаточной степенью точности оценивать содержание кинетина в различных коммерческих препаратах.

Исследования по созданию новых препаратов для растениеводства, медицины и косметологии будут продолжаться, поэтому разработка относительно несложной, быстрой и точной методики количественного анализа кинетина в различных коммерческих препаративных формах является актуальной задачей. Методика может быть использована в области агрохимии, физиологии и биохимии растений, медицине и молекулярной биологии.

Список использованных источников

1. Ботаника : учебник для вузов : в 4 т. / П. Зитте [и др.]. – М. : Академия, 2007–2008. – Т. 2 : Физиология растений / под ред. В. В. Чуба. – 2008. – 496 с.
2. Antiproliferative effect on plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases / K. Vermeulen [et al.] // *Leukemia*. – 2002. – Vol. 16, N 3. – P. 299–305. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402378>
3. Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues / J. Veselý [et al.] // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol. 224, N 2. – P. 771–786. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1994.00771.x>
4. Katz, B. E. Efficacy and tolerability of kinetin 0.1% cream for improving the signs of photoaging in facial and neck skin / B. E. Katz, M. S. Bruck // *Cosmet. Dermatol.* – 2006. – Vol. 19, N 12. – P. 736–741.
5. Kinetin containing lotion compared with retinol containing lotion: Comparable improvements in the signs of photoaging / M. S. Dickens [et al.] // *American Academy of Dermatology. 60th Annual Meeting.* – New Orleans, 2002. – P. 28.
6. Сычев, К. С. Практическое руководство по жидкостной хроматографии / К. С. Сычев. – М. : Техносфера, 2010. – 272 с.
7. Аналитическая хроматография / К. И. Сакодынский [и др.]. – М. : Химия, 1993. – 464 с.

References

1. Sitte P., Weiler E. W., Kadereit J. W., Bresinsky A., Körner K. *Strasburger Lehrbuch der Botanik. 35. Auflage.* Berlin, Spektrum akademischer verlag heidelberg, 2002. 1123 S. (Russ. ed.: Sitte P., Weiler E. W., Kadereit J. W., Bresinsky A., Körner K. *Botanik. Vol. 2. Pflanzenphysiologie.* Moscow, Akademiya Publ., 2008. 496 p.)
2. Vermeulen K., Strnad M., Kryštof V., Havlíček L., Lenjou M., Nijs G. [et al.]. Antiproliferative effect on plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases. *Leukemia*, 2002, vol. 16, no. 3, pp. 299–305. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402378>
3. Veselý J., Havlíček L., Strnad M., Blow J. J., Donella D. A., Pinna L. [et al.]. Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues. *European Journal of Biochemistry*, 1994, vol. 224, no. 2, pp. 771–786. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1994.00771.x>
4. Katz B. E., Bruck M. S. Efficacy and tolerability of kinetin 0.1% cream for improving the signs of photoaging in facial and neck skin. *Cosmetic Dermatology*, 2006, vol. 19, no. 12, pp. 736–741.
5. Dickens M. S., Levy S. B., Helman M. D., Nucci J. E. Kinetin containing lotion compared with retinol containing lotion: Comparable improvements in the signs of photoaging. *American Academy of Dermatology. 60th Annual Meeting.* New Orleans, 2002, p. 28.
6. Sychev K. S. *A practical guide to liquid chromatography.* Moscow, Tekhnosfera Publ., 2010. 272 p. (in Russian).
7. Sakodinskii K. I., Brazhnikov V. V., Volkov S. A., Zel'venskii V. Yu. *Analytical chromatography.* Moscow, Khimiya Publ., 1993. 464 p.

Информация об авторах

Копылова Наталья Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natal.kopylova.68@mail.ru

Калацкая Жанна Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalatskayaj@mail.ru

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

Information about the authors

Natalia A. Kopylova – 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: natal.kopylova.68@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.), Professor, Head of the Laboratory. 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

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

УДК 579.6; 57.046
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-96-101>

Поступила в редакцию 14.11.2018
Received 14.11.2018

А. А. Арашкова

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ГРИБОСТОЙКОСТЬ СТРОИТЕЛЬНЫХ БЛОКОВ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Аннотация. Испытания грибостойкости строительных блоков проведены путем модельного заражения материалов грибным мицелием и спорами. Установлено, что риск развития плесневых грибов на газосиликатных блоках во влажной среде эксплуатации выше, чем на керамзитобетонных блоках. Профилактика плесневого поражения сооружений из ячеистого и керамзитобетона должна включать предотвращение избыточного увлажнения и органического загрязнения, способствующих развитию биодеструкторов.

Ключевые слова: испытания на грибостойкость, микробиологическая стойкость материалов, биоповреждение, плесневые грибы

Для цитирования: Арашкова, А. А. Грибостойкость строительных блоков в условиях модельного эксперимента / А. А. Арашкова // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 96–101. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-96-101>

A. A. Arashkova

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

MOULD RESISTANCE OF BUILDING BLOCKS IN THE CONDITIONS OF MODEL EXPERIMENT

Abstract. Mould resistance testing of concrete building blocks was carried out by model contamination of materials by fungal mycelium and spores. It has been established that the risk of development of mould fungi on gas silicate blocks in humid environment is higher than on claydite-concrete blocks. At the same time, the prevention of mould damage of concrete buildings should include prevention of excessive moisture and organic contamination that contribute to the development of biodestructors.

Keywords: mould resistance testing, microbiological resistance of materials, biodegradation, mould fungi

For citation: Arashkova A. A. Mould resistance of building blocks in the conditions of model experiment. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 96–101 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-96-101>

Введение. Очаги плесневого поражения зданий и сооружений возникают из-за протечек кровли, проникновения влаги через стены и фундамент при нарушениях гидроизоляции и системы наружного водоотведения. Действие микробиологического фактора может существенно сокращать срок эксплуатации строительных конструкций и приводить к их преждевременному разрушению [1], а продукты биодеструкции и жизнедеятельности плесневых грибов могут быть токсичны и аллергенны для человека [2].

В естественных условиях попадание микроскопических грибов (микромикетов) на строительные конструкции происходит посредством переноса спор и фрагментов мицелия воздушными потоками, почвенными и дождевыми водами, насекомыми, а также в результате загрязнения поверхностей [3]. Благоприятные условия влажности в сочетании с подверженностью строительного материала к биодеструкции приводят к развитию микромикетов на поверхности материалов и последующему проникновению их вглубь [4].

Проблема плесневого поражения зданий, как правило, неотъемлемый признак старых построек. Однако в последние годы отмечают распространение процессов биоповреждения на современные здания, а также увеличение видового разнообразия грибов – биодеструкторов новых строительных материалов [5, 6].

Надежность конструкций в условиях эксплуатации во многом определяется стойкостью строительных материалов к воздействию коррозионно-агрессивных факторов внешней среды, естественной составляющей которых являются микроскопические плесневые грибы. В связи с этим одной из важных задач при планировании и осуществлении защиты зданий и сооружений от биологического повреждения является оценка и прогноз грибоустойкости материалов, используемых при строительстве и реконструкции [7].

Для детальной оценки грибоустойкости строительных материалов необходим комплексный подход с использованием методов и стандартов, учитывающих специфику материала и моделирующих благоприятные условия для его колонизации плесневыми грибами, включая температурно-влажностный режим и поверхностное загрязнение [8].

Цель данного исследования – испытание строительных газосиликатных и керамзитобетонных блоков на грибоустойкость путем моделирования контакта материалов со спорами и мицелием плесневых грибов.

Объекты и методы исследования. Для микологических испытаний использовали образцы строительных блоков (6,0×6,0×1,5 см) из ячеистого бетона (газосиликат) и керамзитобетона («ТермоКомфорт»), предварительно не подвергавшиеся климатическим и механическим воздействиям (рис. 1).

Исходная влажность образцов газосиликатных блоков составляла 30 %, керамзитобетонных – 7 %. Для проведения испытаний образцы погружали в воду и выдерживали до полного их влагонасыщения. Для моделирования локального увеличения влажности материалов на поверхность образцов помещали диски ($d = 1$ см), высверленные из застывшей агаризованной среды, содержащей 1,5 % агар-агара. Предварительно диски инокулировали спорами гриба *Aspergillus niger*.

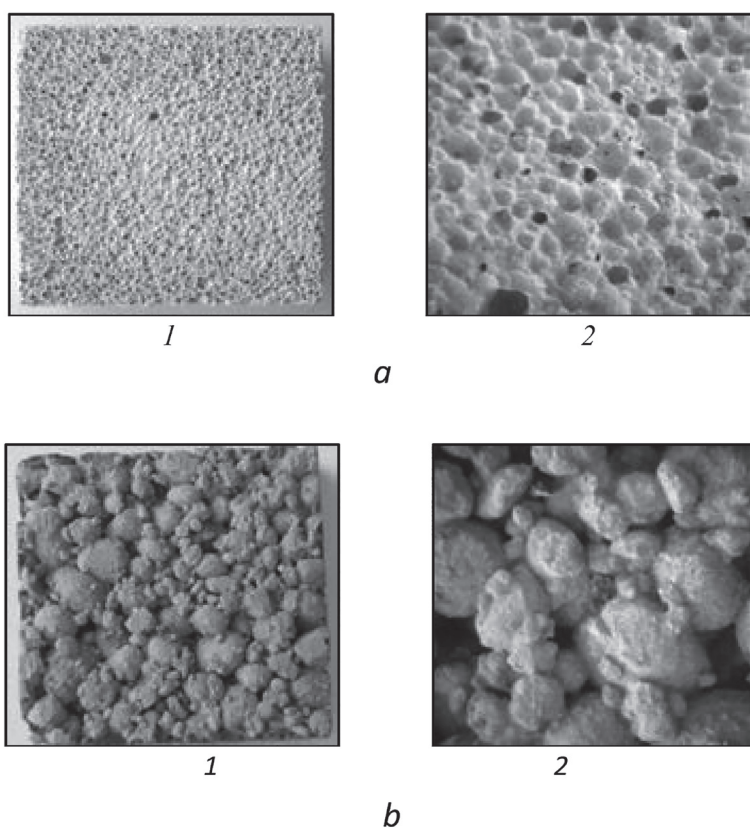


Рис. 1. Образцы строительных блоков (1 – внешний вид; 2 – под микроскопом) из газосиликата (а) и керамзитобетона (б)

Fig. 1. Samples of building blocks (1 – appearance; 2 – under a microscope) from gas silicate (a) and expanded clay concrete (b)

Испытание стойкости строительных блоков к плесневому поражению проводили путем модельного заражения материалов мицелием и спорами микроскопических грибов, выделенных из очагов биоповреждения строительных материалов на минеральной основе (штукатурка, бетон, фуга, минеральная вата и др.).

При заражении строительных блоков сложной ячеистой структуры грибным мицелием в качестве посевного материала использовали пеллеты 3-суточной глубинной культуры грибов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum*. Колонизирующую способность оценивали по интенсивности роста колоний и появлению спороношения на пеллетах. За фунгицидный эффект считали полное ингибирование развития пеллет на материале и отсутствие их жизнеспособности после перенесения на питательную среду Чапека–Докса [9].

Инокуляцию спорами проводили путем опрыскивания материалов суспензией (концентрация $(1-2) \cdot 10^6$ спор/мл). В качестве тест-культур использовали микромицеты видов *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium italicum*, *Trichoderma viride*. Зараженные образцы помещали в чашки Петри и инкубировали при относительной влажности воздуха $80 \pm 5\%$ и температуре 28°C . Для имитации внешнего загрязнения строительных блоков суспензию готовили в жидкой минеральной среде с 3% сахарозы.

Степень развития плесневых грибов на образцах, инокулированных спорами, оценивали спустя 28 сут в баллах согласно ГОСТ 9.048-89: 0 – под микроскопом прорастания спор не обнаружено; 1 – под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развит мицелий; 2 – под микроскопом виден развитый мицелий, возможно спороношение; 3 – невооруженным глазом виден мицелий и (или) спороношение едва заметно, но отчетливо видно в микроскоп; 4 – невооруженным глазом отчетливо просматривается развитие грибов, покрывающих не менее 25% испытуемой поверхности; 5 – невооруженным глазом хорошо заметно развитие грибов, покрывающих более 25% испытуемой поверхности [10].

Результаты и их обсуждение. Моделирование взаимодействия мицелия грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* со строительными блоками показало, что при отсутствии дополнительного увлажнения керамзитобетонных блоков пеллеты тест-культур высыхают и утрачивают жизнеспособность уже на 3-и сутки инкубирования. Активного развития плесневых грибов на воздушно-сухих газосиликатных блоках не наблюдается, однако пеллеты покрываются спороношением, что способствует дальнейшему распространению грибных пропагул по воздуху (рис. 2).



Рис. 2. Состояние пеллет *A. niger* и *P. chrysogenum* спустя 21 сут инкубирования на газосиликатных (a) и керамзитобетонных (b) блоках в сухом и увлажненном виде

Fig. 2. State of *A. niger* and *P. chrysogenum* pellets after 21 days of incubation on gas-silicate (a) and claydite-concrete (b) blocks in dry and wet form

При повышении влажности газосиликата и керамзитобетона стойкость строительных блоков к колонизации плесневыми грибами снижается. Спустя 21 сут инкубирования пеллеты *A. niger* дают черное спороношение, сопровождающееся разрастанием колоний на обоих видах испытанных блоков. *P. chrysogenum* дает спороношение и экссудат только на пеллетах, помещенных на влажные газосиликатные блоки. На влажном керамзитобетоне пеллеты *P. chrysogenum* остаются интактными, не вызывая интенсивного поражения блоков, но сохраняя при этом свою жизнеспособность и биоповреждающий потенциал (рис. 2).

Испытание грибостойкости газосиликатных и керамзитобетонных блоков при заражении спорами показало, что на воздушно-сухих строительных материалах без органического загрязнения рост плесневых грибов *A. alternata*, *A. niger*, *Ch. globosum*, *P. variotii*, *P. chrysogenum*, *P. italicum*, *T. viride* полностью отсутствует (0 баллов). Внешнее загрязнение блоков может служить дополнительным источником питания для грибов и стимулировать прорастание спор и развитие мицелия. В присутствии органического загрязнения газосиликатные блоки подвергаются микробной колонизации (3 балла) даже в воздушно-сухом состоянии (см. таблицу).

Интенсивность развития плесневых грибов на газосиликатных и керамзитобетонных блоках спустя 28 сут после заражения спорами

Intensity of mould fungi development on gas silicate and claydite-concrete blocks on 28 day after inoculation with spores

Строительные блоки без органического загрязнения		Оценка грибостойкости, балл*	
		без органического загрязнения	с органическим загрязнением
Газосиликатные	воздушно-сухие	0; 0; 0	3; 3; 3
	влажные	2; 2; 2	4; 5; 5
Керамзитобетонные	воздушно-сухие	0; 0; 0	0; 0; 0
	влажные	0; 1; 1	2; 2; 3

ГОСТ 9.048-89.

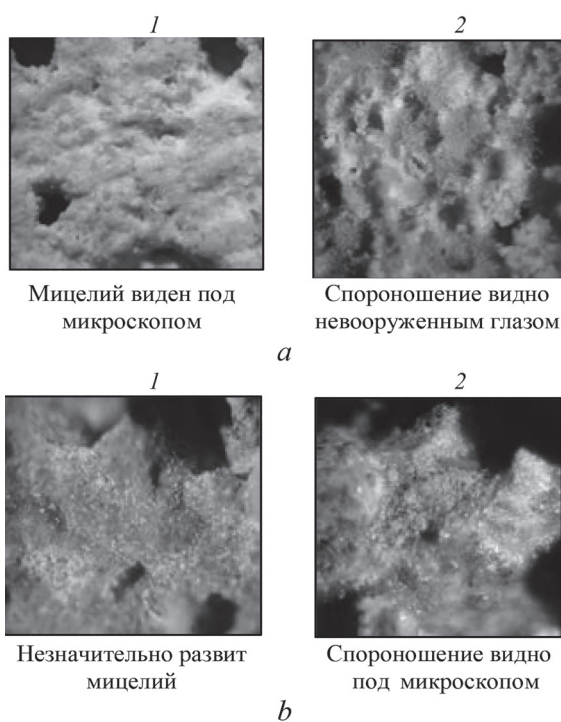


Рис. 3. Развитие плесневых грибов на влажных газосиликатных (а) и керамзитобетонных (b) блоках (1 – без органического загрязнения; 2 – с органическим загрязнением) спустя 28 сут после инокуляции спорами

Fig. 3. The development of mould fungi on wet gas silicate (a) and claydite-concrete (b) blocks (1 – without organic pollution; 2 – with organic pollution) on 28 day after inoculation with spores

Спустя 28 сут после инокуляции загрязненной поверхности влажного газосиликата обильное спороношение микромицетов регистрируется невооруженным глазом (4–5 баллов). В тех же условиях на керамзитобетонных блоках обнаруживается очаговое развитие мицелия и слабое спороношение, заметное только под микроскопом (2–3 балла) (см. таблицу, рис. 3).

На сухих блоках из керамзитобетона споры не прорастают (0 баллов) даже при наличии органического загрязнения (см. таблицу).

Оценка влияния локального увлажнения строительных блоков на развитие плесневых грибов показала, что через 7 сут инкубирования агаровые диски со спорами *A. niger* на газосиликатных блоках покрываются мицелием с черным спороношением, на керамзитобетонных блоках – высыхают и не дают развиваться плесени (рис. 4). Вероятной причиной является то, что блоки из ячеистого бетона медленнее поглощают воду, но, обладая высокой влагоемкостью, долго удерживают влагу в порах, что способствует плесневому поражению. Гранулированная структура керамзитобетона обеспечивает более быстрое испарение влаги.

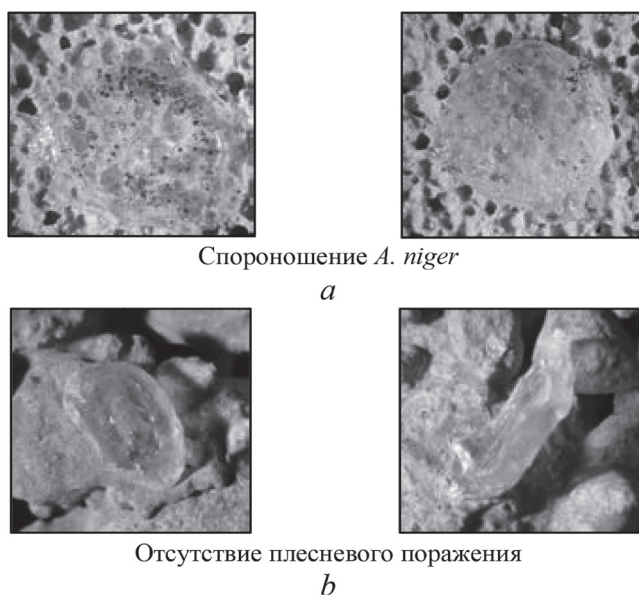


Рис. 4. Состояние агаровых дисков через 7 сут инкубирования на газосиликатных (*a*) и керамзитобетонных (*b*) блоках

Fig. 4. State of agar disks after 7 days of incubation on gas-silicate (*a*) and claydite-concrete (*b*) blocks

Заключение. В условиях модельного эксперимента установлено, что повреждающая активность мицелия грибов *A. niger* и *P. chrysogenum* по отношению к строительным блокам зависит от влажности материалов. При контакте с влажными газосиликатными и керамзитобетонными блоками мицелий *A. niger* обладает более высокой скоростью обрастания минерального субстрата, чем *P. chrysogenum*. Угнетение роста и утрата жизнеспособности мицелия обеих тест-культур возможна только при отсутствии увлажнения строительных блоков.

Помимо увлажнения на грибостойкость строительных блоков влияет наличие внешнего загрязнения, которое служит дополнительным источником питания для микромицетов. Органическое загрязнение газосиликата стимулирует прорастание спор и развитие мицелия даже при воздушно-сухом состоянии блоков.

Быстрое появление спороношения плесневых грибов при локальном увлажнении газосиликатных блоков может способствовать более интенсивной микробной колонизации при повторном намокании, а также повышает микологическую опасность для здоровья людей.

Таким образом, риск развития плесневых грибов на газосиликатных строительных блоках во влажной среде эксплуатации (конденсат, проливы, атмосферные осадки) выше, чем на керамзитобетонных блоках. В то же время профилактика плесневого поражения сооружений из ячеистого и керамзитобетона должна включать предотвращение избыточного увлажнения, а также загрязнения конструкций органическими и другими веществами, способствующими развитию биодеструкторов.

Список использованных источников

1. Лихачев, А. Н. Колонизация микромицетами техногенных субстратов в зданиях / А. Н. Лихачев // Успехи мед. микологии. – 2004. – Т. 3. – С. 93–95.
2. Антонов, В. Б. Микозы и микогенная аллергия как антропогенно-очаговые заболевания / В. Б. Антонов // Успехи мед. микологии. – 2005. – Т. 5. – С. 54–56.
3. Марфенина, О. Е. Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Современные тенденции / О. Е. Марфенина, Г. М. Фомичева // Микология сегодня. – 2007. – Т. 1. – С. 235–266.
4. Повреждения строительных материалов плесневыми грибами / Л. Ю. Огрель [и др.] // Экология и промышленность России. – 2000. – № 4. – С. 39–40.
5. Грибы-биодеструкторы, аллергены и патогены в жилых помещениях современной постройки / Е. В. Халдеева [и др.] // Проблемы мед. микологии. – 2011. – Т. 5, № 2. – С. 115.
6. Микромицеты в естественной среде обитания и в помещениях – их потенциальная опасность для здоровья людей / Е. В. Доршакова [и др.] // Проблемы мед. микологии. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 53–58.
7. Варченко, Е. А. Особенности оценки биоповреждений и биокоррозии материалов в природных средах / Е. А. Варченко // Политем. сетевой электрон. науч. журн. Кубан. гос. аграр. ун-та. – 2014. – № 104. – С. 1987–2004.
8. Проблемы сохранения жилой и производственной инфраструктуры городов от биоразрушения / В. А. Крыленков [и др.] // Инфстрой. – 2003. – № 5. – С. 3–13.
9. Колонизация грибами рода *Aspergillus* текстильных материалов с наноструктурным металлическим покрытием / А. А. Арашкова [и др.] // Современная микология в России / Нац. акад. микологии. – М., 2015. – Т. 4 : Материалы III Междунар. микологического форума / гл. ред. Ю. Т. Дьяков. – С. 279–281.
10. Единая система защиты от коррозии и старения. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов : ГОСТ 9.048-89. – Введ. 01.07.91. – М. : Гос. комитет СССР по стандартам, 1989. – 22 с.

References

1. Likhachev A. N. Colonization of technogenic substrates in buildings by micromycetes. *Uspekhi meditsinskoi mikologii* [Advances in medical mycology], 2004, vol. 3, pp. 93–95 (in Russian).
2. Antonov V. B. Mycoses and mycogenous allergy as anthropogenous diseases. *Uspekhi meditsinskoi mikologii* [Advances in medical mycology], 2005, vol. 5, pp. 54–56 (in Russian).
3. Marfenina O. E., Fomicheva G. M. Potentially pathogenic filamentous fungi in the human habitat. Modern tendencies. *Mikologiya segodnya* [Mycology today], 2007, vol. 1, pp. 235–266 (in Russian).
4. Ogr'el' L. Yu., Pavlenko V. I., Glushchenko V. I., Prudnikova T. N. Damage of building materials by mould fungi. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii* [Ecology and industry of Russia], 2000, no. 4, pp. 39–40 (in Russian).
5. Haldeeva E. V., Glushko N. I., Lisovskaya S. A., Parshakov V. R. Fungi-bi destructors, allergens and pathogens in residential buildings of modern construction. *Problemy meditsinskoi mikologii* [Problems of medical mycology], 2011, vol. 5, no. 2, p. 115 (in Russian).
6. Dorshakova E. V., Blinov N. P., Pavlova I. E., Bogomolova T. S., Chilina G. A., Vasil'eva N. V. Micromycetes in the natural habitat and indoors – their potential danger to human health. *Problemy meditsinskoi mikologii* [Problems of medical mycology], 2012, vol. 14, no. 3, pp. 53–58 (in Russian).
7. Varchenko E. A. Estimation of biodegradation and bio-corrosion of materials in natural environments. *Politematicheskii setevoi elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University], 2014, no. 104, pp. 1987–2004 (in Russian).
8. Krylenkov A., Vlasov D. Yu., Dashko R. E., Startsev S. A. Problems of preserving the residential and industrial infrastructure of cities from bioremediation. *Infstroy* [Infstroy], 2003, no. 5, pp. 3–13 (in Russian).
9. Arashkova A. A., Goncharova I. A., Kostenevich A. A., Pabol' I. L., Denizhenko A. G., Mochailo E. V., Kokhnyuk V. N. Colonization by fungi of the genus *Aspergillus* of textile materials with nanostructural metal coating. *Modern mycology in Russia. Vol. 4. Materials of the III International Mycological Forum*. Moscow, 2015, pp. 279–281 (in Russian).
10. State Standard 9.048-89. *Unified system of protection against corrosion and aging. Technical products. Methods of laboratory tests for resistance to mould fungi*. Moscow, Publishing House for Standards, 1989. 22 p. (in Russian).

Информация об авторе

Арашкова Алина Александровна – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Акад. Купевича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: arashkova.mycology.by@gmail.com

Information about the author

Alina A. Arashkova – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: arashkova.mycology.by@gmail.com

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

УДК 582.475.2:581.162
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-102-106>

Поступила в редакцию 14.11.2018
Received 14.11.2018

Р. И. Караневский, В. И. Торчик

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ХАРАКТЕР ЕСТЕСТВЕННОГО ВОЗОБНОВЛЕНИЯ ВИДОВ РОДА *ABIES* MILL. В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

Аннотация. В статье приводятся сведения о наличии и жизненном состоянии естественного возобновления 10 видов пихт, произрастающих на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

В условиях интродукции исследованные виды пихт дают жизнеспособный, но не всегда обильный и равномерный самосев. Лучшие показатели высоты и диаметра стволика у корневой шейки различного возраста имеют всходы *A. nordmanniana* и *A. sibirica*. У *A. alba*, *A. nordmanniana* и *A. sibirica* отмечено наибольшее количество самосева старшей возрастной группы. У всех исследуемых пихт жизненное состояние всходов оценивается как здоровое.

Ключевые слова: *Abies* Mill., интродукция, семяношение, естественное возобновление, самосев, климатические условия

Для цитирования: Караневский, Р. И. Характер естественного возобновления видов рода *Abies* Mill. в условиях Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси / Р. И. Караневский, В. И. Торчик // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 102–106. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-102-106>

R. I. Karaneuski, U. I. Torchyk

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

THE NATURE OF THE NATURAL RENEWAL OF SPECIES OF THE GENUS *ABIES* MILL. IN THE CONDITIONS OF THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

Abstract. The article contains information on the presence and vital state of the natural renewal of 10 species of fir growing on the territory of the Central Botanical Garden of NAS of Belarus.

Under the conditions of introduction, the investigated species of fir give a viable self-seeding, though not always abundant and uniform. The best indices of height and diameter of the root neck of different ages are the shoots of *A. nordmanniana* and *A. sibirica*. *A. alba*, *A. nordmanniana* and *A. sibirica* have the largest number of self-sowing adults of the older age group. In all investigated firs, the vital state of the shoots is estimated as healthy.

Keywords: *Abies* Mill., introduction, seminal, natural renewal, self-seeding, climatic conditions

For citation: Karaneuski R. I., Torchyk U. I. The nature of the natural renewal of species of the genus *Abies* Mill. in the conditions of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 102–106 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-102-106>

Введение. Изучение естественного возобновления различных видов растений позволяет дать оценку успешности их интродукции, поскольку наличие жизнеспособного потомства и сам факт семяношения свидетельствуют о том, что растение проходит полный цикл своего развития, а следовательно, пригодно для хозяйственного использования в местных климатических условиях.

Главным экологическим фактором, ограничивающим интродукцию растений, является климат, от которого зависит жизнеспособность растения, поскольку за пределами климатического оптимума снижаются энергия роста и интенсивность плодоношения, уменьшаются размеры растений, тускнеет окраска листьев и т. д. [1]. Поэтому для большинства пород были разработаны шкалы теневыносливости, свето- и теплолюбивости, отношение видов к почве и влаге, которые позволяют прогнозировать успешность введения в культуру новых видов.

Одним из показателей, характеризующих интродукционный потенциал растения, является способность давать качественное и жизнеспособное семенное потомство в новых условиях произрастания. В нормальных условиях роста семяношение пород наступает после кульминации текущего прироста в высоту [2], которая у разных деревьев отмечается в разное время: у пород светолюбивых и быстрорастущих – раньше, у теневыносливых и медленнорастущих – позже. Возраст кульминации текущего прироста напрямую зависит от климатических условий: чем эти условия хуже, тем позже кульминация текущего прироста в высоту, а значит, тем позже начинается плодоношение [3]. Однако стоит отметить, что для интродуцированных древесных пород непривычные условия произрастания не препятствуют цветению, а иногда даже стимулируют его, хотя в то же время препятствуют развитию жизнеспособных семян. Часто при обильном урожае семян их полнозернистость не превышает 10 %. Многолетние исследования показали, что в целом семяношение экзотов в местных условиях обильнее, чем у аборигенных видов, но жизнеспособность семян у последних всегда значительно выше [2].

Важным этапом определения интродукционного потенциала растений является также изучение подпологового возобновления породы, поскольку наличие самосева свидетельствует об адаптации интродуцированного растения к новым климатическим условиям. В настоящее время разработаны методики определения жизненного состояния самосева. В. А. Алексеев [4] выделял здоровый, ослабленный, усыхающий и сухой самосев, а также разработал формулу определения индекса жизненного состояния растения, которая используется для определения этого показателя как у спелого древостоя, так и у молодых всходов. По качественному состоянию А. Ю. Злобин [5] делит всходы на неугнетенные, среднеугнетенные и сильноугнетенные. О. В. Рыжков [6] выделяет здоровый, поврежденный и мертвый самосев. Помимо этого выделяют такой показатель, как встречаемость самосева. Также проводят определение его биометрических показателей в разном возрасте.

Цель данной работы – анализ и изучение подпологового самосева всех исследуемых растений для определения его жизнеспособности и оценки возможности дальнейшего хозяйственного использования пихт.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований служили пихта равночешуйчатая (*Abies homolepis* Maur.), пихта одноцветная (*Abies concolor* Lindl. et. Gord.), пихта цельнолистная (*Abies holophylla* Maxim.), пихта корейская (*Abies koreana* Wils.), пихта кавказская (*Abies nordmanniana* Stev.), пихта сибирская (*Abies sibirica* Ldb.), пихта Вича (*Abies veitchii* Lindl.), пихта Фразера (*Abies fraseri* Poir.), пихта белокорая (*Abies nephrolepis* Maxim.), пихта белая (*Abies alba* Mill), которые произрастают в одиночных и групповых посадках на территории ЦБС НАН Беларуси.

Изучение естественного возобновления проводилось по стандартным методикам, принятым в лесном хозяйстве [7], с некоторыми уточнениями и дополнениями. Для выявления наличия самосева был проведен сплошной учет на 10 пробных площадках размером 3×5 м под пологом каждого исследуемого растения. Индекс жизненного состояния молодого поколения определяли по формуле Алексеева: $L = (100n_1 + 70n_2 + 10n_3)/N$, где L – жизненное состояние; n_1, n_2, n_3 – число здоровых, ослабленных и усыхающих экземпляров на 1 га; N – общее число самосева на 1 га, при этом жизненное состояние здоровых экземпляров принимали за 100 %, ослабленных – за 70, усыхающих – за 10, сухих – за 0 %. $L = 100–80$ % указывало на здоровое состояние; $L = 79–50$ % – на ослабленное состояние; $L = 50$ % и менее – на нежизнеспособный самосев [4]. При отнесении к тому или иному уровню жизненного состояния руководствовались литературными данными, которые применяли при определении жизненного состояния естественного возобновления сосны обыкновенной [5]. Также оценивали морфометрические показатели всходов (высоту стволика и его диаметр у корневой шейки), внешний вид и наличие механических повреждений. Встречаемость самосева определяли по формуле: $B = (N_{\text{вст}}/N_{\text{общ}}) \cdot 100$ %, где $N_{\text{вст}}$ – число учетных площадок, на которых встречается самосев; $N_{\text{общ}}$ – общее число учетных площадок. Если B был больше 65 %, распределение считали равномерным, если меньше 65 % – неравномерным. Возраст определяли по количеству мутовок на растении.

Результаты и их обсуждение. Согласно приведенным в табл. 1 данным, естественное возобновление отмечается под пологом всех исследованных пихт. Наибольшим оно было у *A. nordmanniana*, *A. alba* и *A. sibirica* – 1865, 313 и 100 шт. в пересчете на 1 га соответственно. Наименьшее число самосева (в пересчете на 1 га) приходилось на *A. holophylla*. и *A. veitchii* – 20 и 26 шт. соответственно.

Процент встречаемости всходов варьировался от 90 до 30 %. Равномерная встречаемость отмечена у *A. nephrolepis* и *A. nordmanniana*, у остальных видов пихт исследованный показатель отмечен как неравномерный (менее 65 % от нижнего порога встречаемости). Определение возрастного состава по наличию мутовок на растениях позволило установить, что самосев всех пихт живет и развивается в местных условиях, переходя в следующую возрастную группу, хотя у некоторых видов пихт самосев не переходит в стадию подростка в связи с укусами напочвенного покрова в летний период. Наибольшее количество всходов (в пересчете на 1 га) наблюдалось у *A. nordmanniana* – 1865 шт., наименьшее у *A. veitchii* – 20 шт.

Т а б л и ц а 1. Характеристика возрастного состава и встречаемости возобновления у представителей рода *Abies* Mill.

Table 1. Characteristics of the age composition and occurrence of recurrence in representatives of the genus *Abies* Mill.

Вид	Встречаемость, %	К-во, шт.			Всего, шт.	
		1-летние	2–3-летние	4-летние и старше	на 150 м ²	на 1 га
<i>A. alba</i>	60	7	27	13	47	313
<i>A. concolor</i>	40	–	6	1	7	46
<i>A. fraseri</i>	60	2	5	3	10	66
<i>A. holophylla</i>	40	–	1	3	4	26
<i>A. homolepis</i>	40	1	4	–	5	33
<i>A. koreana</i>	60	1	3	2	6	40
<i>A. nephrolepis</i>	70	1	6	2	9	60
<i>A. nordmanniana</i>	90	33	122	125	280	1865
<i>A. sibirica</i>	70	2	6	7	15	100
<i>A. veitchii</i>	30	–	3	–	3	20

Исследование показало, у самосева всех изученных пихт происходит динамическое изменение высоты стволика и его диаметра у корневой шейки. Наибольший диаметр (0,74 мм) у всходов однолетнего возраста наблюдался у *A. nordmanniana*, наименьший (0,60 мм) – у *A. homolepis* и *A. nephrolepis* (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Биометрические показатели возобновления у представителей рода *Abies* Mill.

Table 2. Biometric parameters of recurrence in representatives of the genus *Abies* Mill.

Вид	Диаметр корневой шейки, мм			Высота стволика, см		
	1-летние	2–3-летние	4-летние и старше	1-летние	2–3-летние	4-летние и старше
<i>A. alba</i>	0,74	1,32	2,07	5,2	6,0	7,6
<i>A. concolor</i>	–	1,26	1,93	–	5,5	7,1
<i>A. fraseri</i>	0,65	1,27	2,06	5,2	5,8	6,3
<i>A. holophylla</i>	–	1,70	2,57	–	6,1	7,8
<i>A. homolepis</i>	0,60	1,27	–	5,0	5,6	–
<i>A. koreana</i>	0,70	1,23	2,15	5,3	5,5	7,1
<i>A. nephrolepis</i>	0,60	1,31	2,25	5,2	5,0	7,4
<i>A. nordmanniana</i>	0,79	1,59	2,20	5,3	6,0	7,6
<i>A. sibirica</i>	0,75	1,90	2,81	5,2	5,6	7,9
<i>A. veitchii</i>	–	1,23	–	–	5,2	–

У всходах 2–3-летней возрастной группы наибольший показатель (1,59 мм) был отмечен у *A. sibirica*, наименьший (1,23 мм) – у *A. veitchii*. Диаметр у корневой шейки у экземпляров 4-летней и более возрастной группы варьировался от 2,81 до 1,93 мм, при этом наибольший показатель наблюдался у *A. sibirica*, наименьший – у *A. concolor*. Высота 1-летних всходов практически у всех представителей была одинаковой и составляла около 5,2 см, у 2–3-летних экземпляров уже наблюдалось значительное различие по этому показателю. Максимальная высота отмечалась у самосева *A. holophylla*, минимальная – у *A. nephrolepis*. Для старшей возрастной группы (4 года и старше) также характерно различие по высоте. У всходов *A. holophylla* и *A. sibirica* наблюдалось наибольшее значение высоты стволиков (7,9 и 7,8 см соответственно), наименьший показатель (6,3 см) наблюдался у *A. fraseri*.

Данные исследований о качественном состоянии самосева представлены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Характеристика жизнеспособности возобновления у представителей рода *Abies* Mill.

Table 3. Characteristics of the viability of renewal in representatives of the genus *Abies* Mill.

Вид	Густота, шт/га	Подрост по жизненному состоянию								Индекс жизненного состояния, %
		Здоровые		Ослабленные		Усыхающие		Сухие		
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	
<i>A. alba</i>	313	293	93,6	14	4,5	6	1,9	–	–	97
<i>A. concolor</i>	46	46	100	–	–	–	–	–	–	100
<i>A. fraseri</i>	66	60	90,9	6	9,1	–	–	–	–	97
<i>A. holophylla</i>	26	26	100	–	–	–	–	–	–	100
<i>A. homolepis</i>	33	33	100	–	–	–	–	–	–	100
<i>A. koreana</i>	40	40	100	–	–	–	–	–	–	100
<i>A. nephrolepis</i>	60	54	90	6	10	–	–	–	–	97
<i>A. nordmanniana</i>	1865	1233	66,1	533	28,6	66	3,5	33	1,8	86
<i>A. sibirica</i>	100	80	80	20	20	–	–	–	–	94
<i>A. veitchii</i>	20	7	35	13	65	–	–	–	–	81

Таким образом, индекс жизненного состояния всех исследованных пихт оценивается как здоровый, так как этот показатель ни у одного из изученных видов не был ниже 80 %.

Заключение. Изучение естественного возобновления некоторых видов пихт, произрастающих на территории ЦБС, показало, что в условиях интродукции у всех исследованных растений под пологом имеются всходы разных возрастных групп. Также с изменением возраста у самосева наблюдалось развитие вегетативных органов, что отражалось в динамическом изменении высоты и диаметра стволика у корневой шейки. Наличие ослабленного, усыхающего и сухого самосева говорит о том, что внешние факторы оказывают негативное влияние на всходы, хотя оно не критичное, так как количество такого самосева составляет небольшую долю от общего количества.

Индекс жизненного состояния возобновления у всех исследованных пихт оценивается как здоровый, что свидетельствует о том, что в местных условиях интродуценты проходят полный цикл своего развития, семяносятся, в результате чего образуется жизнеспособный самосев, который может перейти в стадию подростка (а позднее и подлеска) и сформировать лесной массив.

Список использованных источников

1. Шкутко, Н. В. Хвойные Белоруссии: экол.-биол. исследования / Н. В. Шкутко. – Минск : Навука і тэхніка, 1991. – 264 с.
2. Морозов, Г. Ф. Учение о лесе / Г. Ф. Морозов. – 7-е изд. – М. ; Л. : Гослесбумиздат, 1949. – 456 с.
3. Бюсген, М. Строение и жизнь наших лесных деревьев / М. Бюсген ; пер. 3-го, переработ. и доп. д-ром Е. Мюнхом нем. изд. ; пер. с нем. С. М. Зепалова. – М. ; Л. : Гослесбумиздат, 1961. – 424 с.
4. Алексеев, В. А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев / В. А. Алексеев // Лесоведение. – 1989. – № 4. – С. 51–57.
5. Злобин, Ю. А. Оценка качества подростка древесных растений / Ю. А. Злобин // Лесоведение. – 1970. – № 3. – С. 96–101.

6. Рыжков, О. В. Экологические факторы, ограничивающие естественное возобновление дуба в Центрально-черноземном заповеднике / О. В. Рыжков // Экология. – 1994. – № 5. – С. 22–27.

7. Справочник работника лесного хозяйства / редкол. : И. Д. Юркевич, В. П. Романовский, Д. С. Голод. – 4-е изд., перераб. и доп. – Минск : Наука и техника, 1986. – 623 с.

References

1. Shkutko N. V. *Conifers in Belarus: ecological and biological research*. Minsk, Navuka i tekhnika Publ., 1991. 264 p. (in Russian).

2. Morozov G. F. *Doctrine of the forest*. 7 ed. Moscow, Leningrad, Goslesbumizdat Publ., 1949. 456 p. (in Russian).

3. Büsgen M. *Bau und Leben unserer Waldbäume*. 3. neu bearbeitete und vermehrte Auflage. Jena, Gustav Fischer Verlag, 1927. 173 S. (Russ. ed.: Byusgen M. *The structure and life of our forest trees*. Moscow, Leningrad, Goslesbumizdat Publ., 1961. 424 p.).

4. Alekseev V. A. Diagnosis of the life state of trees and stands. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*, 1989, no. 4, pp. 51–57 (in Russian).

5. Zlobin Y. A. Assessment of quality of undergrowth of woody plants. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*, 1970, no. 3. pp. 96–101 (in Russian).

6. Ryzhkov O. V. Environmental factors limiting the natural renewal of oak in the Central Chernozem Reserve. *Ekologiya = Russian Journal of Ecology*, 1994, no. 5, pp. 22–27 (in Russian).

7. Yurkevich I. D., Romanovskii V. P., Golod D. S. (eds.). *Directory of the forestry worker*. 4 ed. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1986. 623 p. (in Russian).

Информация об авторах

Караневский Руслан Игоревич – аспирант. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ruskar1992@gmail.com

Торчик Владимир Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dendro@tut.by

Information about the authors

Ruslan I. Karaneuski – Graduate student. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ruskar1992@gmail.com

Uladzimir I. Torchyk – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dendro@tut.by

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

УДК 581.9
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-107-111>

Поступила в редакцию 14.11.2018
Received 14.11.2018

С. К. Бакей

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН ИНВАЗИВНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ РОДА ЗОЛОТАРНИК (*SOLIDAGO*)

Аннотация. Изучена всхожесть семян золотарника в 38 пробах, отобранных в пределах Минской (17 проб) и Новогрудской (21) возвышенностей в осенний (14), зимний (11) и весенний (13) периоды 2017–2018 гг.

Установлено, что всхожесть семян золотарника колеблется в широком диапазоне – от 0 до 95 %, а количество неразвитых семян в пробах составляет от 2 до 95 %. Между всхожестью семян и количеством неразвитых семян существует выраженная обратная связь (коэффициент корреляции –0,97). Между осенними, зимними и весенними пробами статистически достоверных различий по всхожести семян и количеству неразвитых семян не выявлено. В пробах, отобранных в пределах Минской и Новогрудской возвышенностей, установлены статистически достоверные различия между всхожестью семян ($p = 0,00018$) и количеством неразвитых семян ($p = 0,00032$). Таким образом, всхожесть семян золотарника не зависит от сезонной климатической динамики. Семена устойчивы к морозу, и для их прорастания не требуется стратификации. Для выявления факторов, влияющих на формирование семян, необходимо проведение дополнительных исследований.

Ключевые слова: золотарник, *Solidago*, инвазивный вид, всхожесть семян, стратификация, устойчивость к морозу

Для цитирования: Бакей, С. К. Всхожесть семян инвазивных видов растений рода Золотарник (*Solidago*) / С. К. Бакей // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 107–111. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-107-111>

S. K. Bakei

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

SEED GERMINATION OF INVASIVE PLANT SPECIES OF THE GENUS GOLDENROD (*SOLIDAGO*)

Abstract. The germination of seeds of invasive compaction of plant species of the genus *Solidago* was studied in 38 samples selected within the Minsk (17 samples) and Novogrudok (21 samples) Upland in the autumn (14 samples), winter (11 samples) and spring (13 samples) periods 2017–2018 years. Germination of seeds varies in a wide range from 0 to 95%. Also, when registering the results, they revealed the presence of undeveloped seeds, the number of which in the samples ranges from 2 to 95 %. A pronounced feedback was established between the germination of seeds and the number of undeveloped seeds (correlation coefficient –0.97). Between autumn, winter and spring samples there were no statistically significant differences in seed germination and the number of undeveloped seeds. Between the samples selected within the Minsk and Novogrudok Upland, statistically significant differences were revealed both for seed germination ($p = 0.00018$) and for the number of undeveloped seeds ($p = 0.00032$). Thus, the dependence of germinating seed germination on seasonal climatic changes is not revealed. For seed germination, stratification is not required and they are resistant to frost. It is also necessary to conduct additional studies to identify the factors affecting the formation of seeds.

Keywords: goldenrod, *Solidago*, invasive species, seed germination, stratification, resistance to frost

For citation: Bakei S. K. Seed germination of invasive plant species of the genus Goldenrod (*Solidago*). *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 107–111 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-107-111>

Введение. На территории Республики Беларусь произрастают 4 вида рода Золотарник (*Solidago*). Из них аборигенный – *S. virgaurea* L. (з. обыкновенный) и адвентивные: *S. canadensis* L. (золотарник канадский), *S. gigantea* Aiton (золотарник гигантский) и *S. rugosa* Mill. (золотарник морщинистый). При этом золотарники гигантский и канадский, являющиеся инвазивными видами, рассматриваются нами как инвазивный комплекс в силу высокого внешнего сходства и склонности к совместному произрастанию [1–3].

Семенная продуктивность золотарников высока, более 10 тыс. на один генеративный побег. Семена рассеиваются на дальние расстояния, что обеспечивает колонизацию незанятых участков. Рассеиванию ветром способствуют небольшие размеры семян и низкая скорость их падения на почву. Семена, падающие с высоты 1 м над уровнем почвы при скорости ветра до 5 м/с, рассеиваются в среднем на 0,3 (0,6–2,4) м. Всхожесть семян является важным показателем генеративного потенциала растений и, соответственно, их инвазионного потенциала [1]. Кроме того, золотарник может служить модельным объектом для оценки инвазионного потенциала видов, имеющих схожие биологические особенности.

Цель данного исследования – оценить всхожесть семян инвазивного комплекса растений рода *Solidago* в зависимости от сезонной климатической динамики.

Материалы и методы исследования. В этом исследовании анализировалась всхожесть семян золотарников в 38 пробах, отобранных в пределах Минской (17 проб) и Новогрудской (21) возвышенностей в осенний (14), зимний (11) и весенний (13) периоды 2017–2018 гг. Пробы отбирали на прямостоящих побегах, выше уровня снежного покрова. Для рандомизации срезали соплодия у 5 растений, отделяли семена и подготавливали смешанную пробу. Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге при температуре 20 °С. Всхожесть регистрировали на 7-й день. Статистическую обработку данных осуществляли посредством программы Statistica 10.0.

Приведем краткую характеристику ценопопуляций золотарников, из которых отбирались пробы.

Минская возвышенность: Sm1 – г. Минск, Центральный ботанический сад НАН Беларуси, суходольный злаково-разнотравный луг, 14.04.2017; **Sm2** – г. Минск, парк Камней, опушка березово-осиново-злаковой роши, 16.01.2018; **Sm3** – г. Минск, парк Камней, березово-осиново-злаковая роша, 16.01.2018; **Sm4** – г. Минск, парк Камней, березово-злаковая роша, 16.01.2018; **Sm5** – г. Минск, лесопарк по ул. Кирилла Туровского, ивняк золотарниково-разнотравный, 16.01.2018; **Sm6** – лесопарк по ул. Кирилла Туровского, обочина грунтовой дороги в ельнике зеленомошном, 16.01.2018; **Sm7** – г. Минск, ТЭЦ-3, суходольный злаково-разнотравный луг, 20.01.2018; **Sm8** – г. Минск, парк 60-летия Октября, разреженный сосняк малиново-разнотравный, 20.01.2018; **Sm9–11** – г. Минск, Кальварийское кладбище, обочина дороги, 25.01.2018; **Sm12** – г. Минск, ул. Скорины, опушка сосняка малиново-злакового, 27.03.2018; **Sm13** – г. Минск, ул. Парниковая, обочина асфальтированной дороги, суходольный злаково-разнотравный луг, 27.03.2018; **Sm14** – г. Минск, проезд Дачный, опушка сосняка злаково-разнотравного, 27.03.2018; **Sm15** – г. Минск, пер. Алтайский, рудеральное сообщество, 29.03.2018; **Sm16** – г. Минск, ул. Семашко, суходольный злаково-разнотравный луг, 03.04.2018; **Sm17** – г. Минск, ул. Кирилла Туровского, опушка сосняка зеленомошного, 10.04.2018.

Новогрудская возвышенность: Sn1 – Гродненская обл., г. Новогрудок, Молочная кампания «Новогрудские дары», низинный злаково-разнотравный луг, 25.04.2017; **Sn2** – Гродненская обл., г. Новогрудок, Молочная кампания «Новогрудские дары», окраина зарослей *Salix caprea*, 25.04.2017; **Sn3** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, Городиловка (городское кладбище), обочина грунтовой дороги, 25.04.2018; **Sn4** – Гродненская обл., г. Новогрудок, ул. Индустриальная, суходольный злаково-золотарниковый луг, 25.04.2018; **Sn5** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, урочище Ботаровка, заросли ив на опушке ельника чернично-зеленомошного, 23.10.2018; **Sn6** – Гродненская обл., г. Новогрудок, ул. Тихая, опушка березняка злакового, 23.10.2017; **Sn7** – Гродненская обл., г. Новогрудок, Молочная кампания «Новогрудские дары», низинный злаково-разнотравный луг, 24.10.2017; **Sn8** – Гродненская обл., г. Новогрудок, Молочная кампания «Новогрудские дары», окраина зарослей *Salix caprea*, 24.10.2017; **Sn9** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, хутор Экономия, обочина грунтовой дороги, 25.10.2018; **Sn10** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, рудеральное сообщество в пойме р. Валовка, 25.10.2018; **Sn11** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, опушка ивняка в пойме р. Валовка, 25.10.2018; **Sn12** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, пойменный злаково-разнотравный луг р. Валовка, 25.10.2018; **Sn13** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, пос. Городечно, опушка березняка злакового, 25.10.2017; **Sn14** – Гродненская обл., Новогрудский р-н, пос. Городечно, суходольный злаково-разнотравный луг, 25.10.2017; **Sn15** –

Гродзенская обл., г. Новогрудок, ул. Колодезная, суходольный злаково-разнотравный луг под ЛЭП, 22.11.2018; **Sn16** – Гродзенская обл., г. Новогрудок, д. Попковичи, опушка ельника черничного, 24.11.2018; **Sn17** – Гродзенская обл., г. Новогрудок, ул. Советская, суходольный злаково-разнотравный луг, 24.11.2017; **Sn18** – Гродзенская обл., г. Новогрудок, ул. Лермонтова, суходольный злаково-разнотравный луг, 24.11.2017; **Sn19** – Гродзенская обл., Новогрудский р-н, Городиловка, берег искусственного пруда, вдоль заросли *Reynoutria japonica*, 14.12.2017; **Sn20** – Гродзенская обл., Новогрудский р-н, Городиловка, прогалина между смешанным елово-дубово-зеленомошным лесом и зарослью *Acer negundo*, 13.03.2018; **Sn21** – Гродзенская обл., Новогрудский р-н, Городиловка, опушка березняка злаково-разнотравного, 13.03.2018.

Таким образом, пробы отбирали в широком диапазоне экологических условий – от открытых луговых сообществ до лесных массивов.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследований установлено, что всхожесть семян золотарников колеблется в широком диапазоне – от 0 до 95 % (см. таблицу). При этом в осенних пробах всхожесть колебалась от 2 до 95 %, в зимних – от 7 до 92, в весенних – от 0 до 95 %. Среди проб, отобранных на Минской возвышенности, всхожесть составила от 7 до 95 %, на Новогрудской возвышенности – от 0 до 95 %. Очевидно, что ценопопуляции золотарников, имеющие всхожесть семян свыше 90 %, обладают наибольшим инвазионным потенциалом из всех изученных ценопопуляций.

**Всхожесть и количество неразвитых семян в пробах семян видов растений
инвазивного комплекса рода *Solidago***

**Germination and the number of undeveloped seeds in seed samples of plant species
of the invasive complex of the genus *Solidago***

Код	Дата отбора	Всхожесть, %	Неразвитые семена, %	Код	Дата отбора	Всхожесть, %	Неразвитые семена, %
Sm1	14.04.2017	94	3	Sn19	14.12.2017	34	61
Sn1	25.04.2017	26	69	Sm2	16.01.2018	89	9
Sn2	25.04.2017	0	98	Sm3	16.01.2018	88	7
Sn3	25.04.2017	0	95	Sm4	16.01.2018	92	7
Sn4	25.04.2017	22	58	Sm5	16.01.2018	91	5
Sn5	23.10.2017	4	91	Sm6	16.01.2018	7	91
Sn6	23.10.2017	6	89	Sm7	20.01.2018	81	17
Sn7	24.10.2017	73	13	Sm8	20.01.2018	88	6
Sn8	24.10.2017	45	51	Sm9	25.01.2018	89	7
Sn9	25.10.2017	78	14	Sm10	25.01.2018	85	12
Sn10	25.10.2017	50	37	Sm11	25.01.2018	79	15
Sn11	25.10.2017	16	72	Sn20	13.03.2018	29	65
Sn12	25.10.2017	76	12	Sn21	13.03.2018	23	67
Sn13	25.10.2017	55	28	Sm12	27.03.2018	91	4
Sn14	25.10.2017	79	17	Sm13	27.03.2018	95	2
Sn15	22.11.2017	95	5	Sm14	27.03.2018	81	5
Sn16	24.11.2017	30	58	Sm15	29.03.2018	81	12
Sn17	24.11.2017	93	3	Sm16	03.04.2018	55	37
Sn18	24.11.2017	2	95	Sm17	10.04.2018	92	3

Кроме того, обнаружено, что количество неразвитых семян (рис. 1) в пробах составляет от 3 до 98 % (см. таблицу). В осенних пробах количество неразвитых семян колебалось от 3 до 95 %, в зимних – от 5 до 91, в весенних – от 2 до 98 %. Среди проб, отобранных на Минской возвышенности, количество неразвитых семян составляло от 2 до 91 %, на Новогрудской возвышенности – от 3 до 98 %.

Широкий диапазон значений показателей всхожести и количества неразвитых семян указывает на существование экологических факторов, требующих дополнительных исследований по определению их влияния на генеративные параметры растений рода *Solidago*.

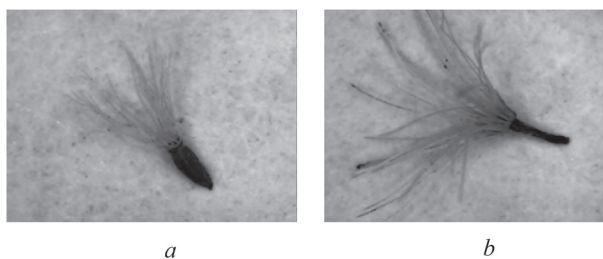


Рис. 1. Семена *Solidago*: *a* – развитое; *b* – неразвитое
 Fig. 1. Seeds of *Solidago*: *a* – developed; *b* – undeveloped

Статистический анализ данных показал выраженную обратную связь (рис. 2) между всхожестью семян и количеством неразвитых семян (коэффициент корреляции $-0,97$). Эта связь позволяет предположить, что изменение фактора, влияющего на количество неразвитых семян, в сторону оптимума для золотарников приведет к увеличению всхожести семян и, соответственно, к повышению инвазионного потенциала отдельной заросли золотарника.

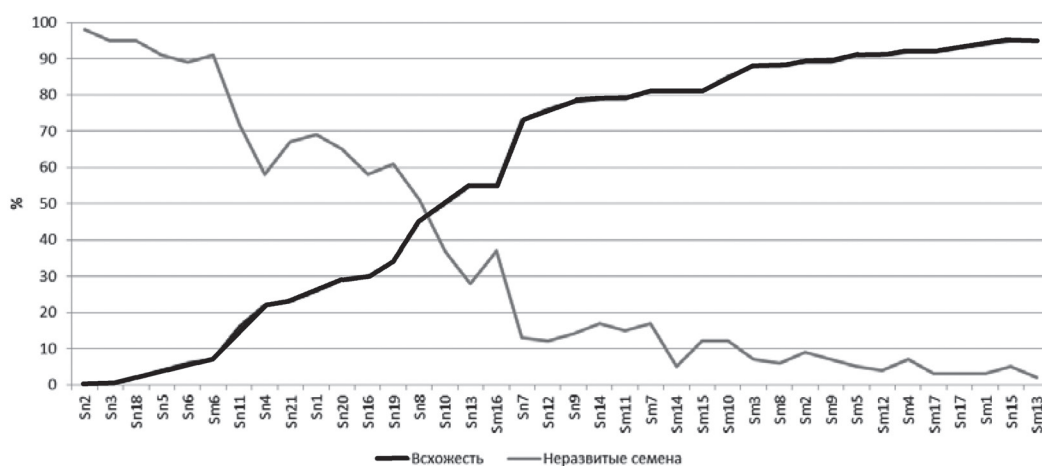


Рис. 2. Соотношение всхожести и количества неразвитых семян
 Fig. 2. The ratio of germination and the number of undeveloped seeds

Между осенними, зимними и весенними пробами статистически достоверных различий по всхожести семян и количеству неразвитых семян не выявлено. Между пробами, отобранными в пределах Минской и Новогрудской возвышенностей выявлены статистически достоверные различия между показателями как всхожести семян, $p = 0,00018$ (рис. 3), так и количества нераз-

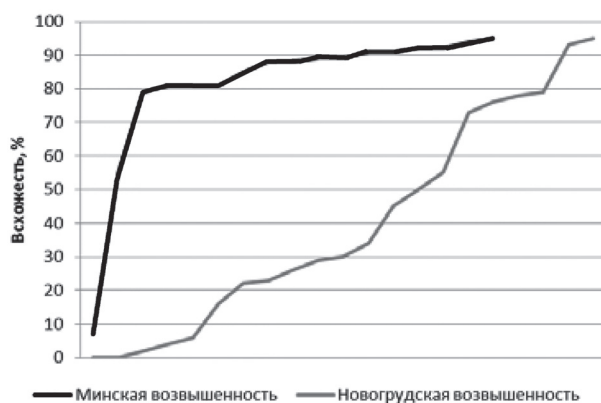


Рис. 3. Всхожесть семян инвазивного комплекса видов растений рода *Solidago*

Fig. 3. Seed germination of an invasive complex of plant species of the genus *Solidago*

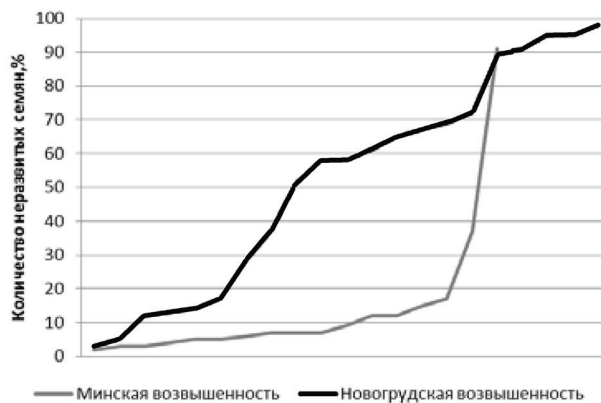


Рис. 4. Количество неразвитых семян инвазивного комплекса видов растений рода *Solidago*

Fig. 4. The number of undeveloped seeds of an invasive complex of plant species of the genus *Solidago*

витых семян, $p = 0,00032$ (рис. 4). Таким образом, сезонная динамика климата не оказывает существенного влияния на всхожесть семян золотарников. Также для семян золотарника нет необходимости проходить стратификацию. В связи с выявлением различий между пробами, отобранными на Минской и Новогрудской возвышенностях, требуется проведение дополнительных исследований для определения причин их возникновения.

Заключение. Проведенные исследования показали, что всхожесть семян инвазивного комплекса видов растений рода *Solidago* не зависит от сезонной динамики климата, а для прорастания семян не требуется стратификации. Помимо всхожести установлен такой параметр, как количество неразвитых семян, также имеющий значение при определении инвазионного потенциала растений. Широкий диапазон значений показателей всхожести и количества неразвитых семян свидетельствует о влиянии на генеративные параметры растений рода *Solidago* экологических факторов, что требует дополнительных исследований. Наличие выраженной отрицательной корреляционной связи между всхожестью и количеством неразвитых семян позволяет предположить, что изменение фактора, влияющего на количество неразвитых семян, в сторону оптимума для золотарников приведет к увеличению всхожести семян и, соответственно, к повышению инвазионного потенциала отдельной заросли золотарника. В связи с выявлением различий между пробами, отобранными на Минской и Новогрудской возвышенностях, требуется проведение дополнительных исследований для определения причин их возникновения.

Список использованных источников

1. Виноградова, Ю. К. Черная книга флоры Средней России: чужеродные виды растений в экосистемах Средней России / Ю. К. Виноградова, С. Р. Майоров, Л. В. Хорун. – М. : ГЕОС, 2010. – 512 с.
2. Тихомиров, В. Н. Золотарник морщинистый (*Solidago rugosa* Mill.) – новый адвентивный вид во флоре Беларуси / В. Н. Тихомиров, И. И. Шимко // Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты: сб. ст. II междунар. науч.-практ. конф., Минск, 12–14 нояб. 2013 г. / редкол. : В. Д. Поликсенова (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2013. – С. 74–76.
3. Определитель высших растений Беларуси / Т. А. Сауткина [и др.] ; под ред. В. И. Парфёнова. – Минск : Дизайн ПРО, 1999. – 472 с.

References

1. Vinogradova Yu. K., Majorov S. R., Khorun L. V. *The Black Book of the flora of Central Russia: alien plant species in the ecosystems of Central Russia*. Moscow, GEOS Publ., 2010. 512 p. (in Russian).
2. Tihomirov V. N., Shimko I. I. Goldenrod wrinkled (*Solidago rugosa* Mill.) – a new adventive species in the flora of Belarus. *Aktual'nye problemy izucheniya i sokhraneniya fito- i mikobioty: sbornik statei II mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (12–14 noyabrya 2013 g., Minsk)* [Modern problems in botanical and mycological research: a collection of articles of the II International scientific and practical conference (November 12–14, 2013, Minsk)]. Minsk, 2013, pp. 74–76 (in Russian).
3. Sautkina T. A., Tretyakov D. I., Zubkevich G. I., Kozlovskaya N. V., Parfenov V. I., Blazhevich R. Yu., Skuratovich A. N., Dmitrieva S. A., Semerenko L. V., Simonovich L. G. *The determinant of higher plants of Belarus*. Minsk, Dizain PRO Publ., 1999. 472 p. (in Russian).

Информация об авторе

Бакей Станислав Казимирович – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gerbarolog@gmail.com

Information about the author

Stanislav K. Bakei – Junior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gerbarolog@gmail.com

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 579.61
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-112-124>

Поступила в редакцию 06.03.2018
Received 06.03.2018

Ю. М. Капустина, Л. В. Рубаник

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь*

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ГЕНОТИПИРОВАНИЮ *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Аннотация. Проведен обзор литературных данных о молекулярно-генетических методах генотипирования *Chlamydia trachomatis* и оценена возможность их практического использования. Информация, полученная в результате применения этих методов, является основой для эволюционного анализа и эпидемиологического мониторинга за циркуляцией возбудителя, а также для разработки целенаправленной профилактики, создания вакцины, повышения эффективности противохламидийного лечения.

Ключевые слова: уrogenитальный хламидиоз, генотипическое разнообразие, молекулярно-генетическая идентификация

Для цитирования: Капустина, Ю. М. Современные подходы к генотипированию *Chlamydia trachomatis* / Ю. М. Капустина, Л. В. Рубаник // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 112–124. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-112-124>

Yu. M. Kapustina, L. V. Rubanik

Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

MODERN APPROACHES TO STUDYING AND GENOTYPING *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Abstract. A descriptive review is provided of the various molecular *Chlamydia trachomatis* typing methods and the estimation of possibility of their practical use has been evaluated. The information obtained as a result of the application of these methods is the basis for the evolutionary analysis and epidemiological monitoring of the circulation of the pathogen, contributes to the development of targeted prevention, the creation of a vaccine, and the effectiveness of antichlamydia treatment.

Keywords: urogenital chlamydia infection, genetic diversity, molecular genetic identification

For citation: Kapustina Yu. M., Rubanik L. V. Modern approaches to studying and genotyping *Chlamydia trachomatis*. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 112–124 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-1-112-124>

Введение. *Chlamydia trachomatis*, являясь одним из самых распространенных бактериальных возбудителей уrogenитальных инфекций в мире, наносит огромный экономический и демографический ущерб обществу. По некоторым данным, из всех инфекций, передаваемых половым путем, на долю хламидиоза приходится от 40 до 50 % [1].

Вид *C. trachomatis* в настоящее время включает в себя 14 серотипов и 7 подтипов, отличающихся по своим биологическим свойствам, культуральным характеристикам, распространенности и вызываемым заболеваниями. Серотипы от А до С (включая подтип Ва) являются возбудителями трахомы, серовары от D до К (включая подтипы Da, Ga, Ia, Ja) вызывают уrogenитальные

инфекции, а L1–L3 (включая подтипы L2a, L2b) относятся к возбудителям паховой лимфогранулемы [2, 3]. При этом традиционно на протяжении многих лет серотипы определяли с помощью иммунотипирования с использованием поли- или моноклональных антител к главному белку наружной мембраны (Major Outer Membrane Protein, МОМР) [4]. Первая работа по применению моноклональных антител для типирования *C. trachomatis* была опубликована в 1982 г. [5]. В 1985 г. S. P. Wang и С. С. Kuo [6] усовершенствовали ранее предложенную методику за счет создания двухступенчатой системы серотипирования, которая позволила дополнительно выявить подтипы Da, Ia и L2a, а также упростить дифференцировку между сероварами, вызывающими лимфогранулему (L1 и L3), и сероварами, вызывающими урогенитальные инфекции (E и F). Однако серотипирование – достаточно трудоемкий метод, предполагающий многократное пассирование в культуре клеток и последующее использование большого количества моноклональных антител, поэтому в настоящее время он применяется все реже [7]. Кроме того, благодаря бурному развитию молекулярной биологии генотипирование практически вытеснило серотипирование.

С конца 1980-х годов начались масштабные молекулярные исследования в области определения нуклеотидной структуры гена *ompA* *C. trachomatis*. Внимание к данному гену было обусловлено тем, что именно он кодирует основной структурный и наиболее иммуногенный МОМР белок, индуцирующий развитие иммунного ответа в организме человека. В 1989 г. исследователи из Национального института аллергии и инфекционных заболеваний Гамильтона (США) опубликовали работу, в которой впервые описана методика типирования *C. trachomatis* при помощи определения нуклеотидной последовательности гена *ompA*. Эта схема позволила первоначально генотипировать только 14 серотипов и 1 подтип возбудителя [8]. В ходе дальнейших исследований были использованы технологии для генотипирования 14 серотипов и 5 подтипов – А, В/Ва, С, D/Da, Е, F, G/Ga, H, I/Ia, J, K, L1, L2/L2a и L3 [9–11]. Также с помощью методов молекулярного типирования в 2012 г. были получены данные о методе идентификации двух ранее нетипированных подтипов – Ja и L2b [12].

Определение нуклеотидной структуры гена *ompA* важно для создания эффективной вакцины против *C. trachomatis* [13]. Кроме того, молекулярная характеристика и типирование возбудителя широко используются для разработки новых методов генодиагностики, что обусловлено возникновением различных изменений нуклеотидной структуры его генома и появлением рекомбинантных форм. Только генотипирование дает возможность определить генотипическое разнообразие циркулирующих штаммов патогена, изучить особенности тканевого тропизма генотипов и их взаимосвязь с клиническими проявлениями заболевания. Именно молекулярно-эпидемиологические данные позволяют установить цепочки передачи возбудителя, группы повышенного риска, дифференцировать реинфицирование от случаев неэффективного лечения [2].

Цель настоящей работы – характеристика различных методов генотипирования *C. trachomatis* и анализ мирового опыта их применения.

В настоящее время к числу методов, позволяющих определить генотип *C. trachomatis*, относятся секвенирование гена *ompA*, метод определения полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) гена *ompA*, анализ полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP), ПЦР со случайными праймерами (Random Amplification of Polymorphic DNA, RAPD), многолокусный анализ варибельного числа tandemных повторов (MLVA), мультилокусное сиквенс-типирование (MLST), а также методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот и полногеномное секвенирование. Рассмотрим каждый из этих методов в отдельности.

Генотипирование *C. trachomatis* на основании секвенирования гена *ompA* осуществляется при помощи ПЦР-амплификации с использованием праймеров, гомологичных участкам последовательности данного гена, и последующим секвенированием продуктов реакции.

Ген *ompA* имеет протяженность около 1200 п. н., содержит в своем составе 4 варибельных (VD I–IV) и 5 константных (CS 1–5) доменов (рис. 1).

Для секвенирования используются праймеры, охватывающие как всю последовательность гена (1 пара праймеров, одностадийная ПЦР), так и праймеры, амплифицирующие отдельные

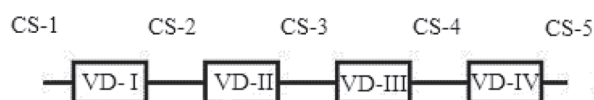


Рис. 1. Схема доменной организации гена *ompA* *C. trachomatis*
 Fig. 1. Scheme domain organization of the *ompA* gene *C. trachomatis*

участки гена, которые впоследствии перекрываются и составляют общую последовательность (3 пары праймеров, гнездовая ПЦР) [2]. Поиск гомологичных последовательностей осуществляется с помощью базы данных GenBank и программы Nucleotide BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для последующего компьютерного анализа последовательностей (множественного выравнивания, определения генетических расстояний, филогенетической реконструкции, установления достоверности топологии) используют программу MEGA (Molecular Evolutionary genetics analysis). Генетические расстояния между последовательностями определяют с помощью двухпараметрической модели эволюции Kimura. Реконструкцию филогенетических древ выполняют на основании полученных эволюционных расстояний с помощью алгоритма neighbor-joining, встроенного в MEGA. Достоверность топологии филограм оценивают методом псевдореплик (анализируют не менее 1000). Вывод о принадлежности анализируемой последовательности к определенному генотипу делают на основании ее встраивания в общий кластер с максимально гомологичными последовательностями, при этом значения бутстреппинга в узлах должны составлять не менее 90 %, что свидетельствует о статистической достоверности топологии.

Использование метода секвенирования *ompA* гена *C. trachomatis* позволяет обнаружить не только незначительные изменения, такие как однонуклеотидные замены, вставки или делеции в исследуемой последовательности гена, но и определить присутствие рекомбинационных изменений [3, 14].

С помощью метода гнездовой ПЦР с использованием комбинаций трех пар праймеров (P1/ST6R, ST6F/OMP2, NLF/NLR) белорусскими исследователями О. С. Полуян с соавт. [15] получены данные о распространенности серотипов *C. trachomatis* (см. таблицу), а также о преобладании моно-серотипного статуса над микст-серотипным вариантом инфекции среди пациентов с воспалительными процессами урогенитального тракта. При использовании аналогичного подхода генотипирования А. Н. Асташонком [16] впервые в Беларуси были идентифицированы В, G, J генотипы *C. trachomatis*.

В Греции в 2011 г. посредством секвенирования гена *ompA* в пробах из урогенитального тракта человека обнаружены уникальный вариант генотипа D/Er6 *C. trachomatis* (GenBank: X77364.2), а также возбудитель хламидиоза животных *Chlamydophila abortus* [21]. В Германии и Испании в 2013–2014 гг. с использованием этого метода выявлен новый мутантный «шведский» вариант *C. trachomatis* (new variant *C. trachomatis*, nvCT) [22, 23].

К основным недостаткам метода относят то, что ген *ompA* представлен одной копией на бактериальную клетку, что составляет 0,1 % от всего генома хламидий, а также то, что он наиболее подвержен давлению со стороны иммунной системы хозяина и рекомбинационным процессам. Кроме того, для получения информации о присутствии в одной биологической пробе нескольких генотипов *C. trachomatis* (например, при микст-серотипной хламидийной инфекции), необходимо проведение нескольких дополнительных реакций амплификации и секвенирования, что значительно увеличивает продолжительность анализа и объем необходимых реактивов [3].

Со временем для повышения разрешающей способности генотипирования и улучшения качества и количества информации, необходимой для молекулярной эпидемиологии, были разработаны методы генотипирования с использованием анализа множества локусов в геноме *C. trachomatis*. Это позволило расширить данные о генетической структуре популяции патогена и определить связь между генотипом и клиническими проявлениями заболевания [3].

Мультилокусный анализ переменного числа тандемных повторов (Multiple Locus Variable Number Tandem Repeats Analysis, MLVA) дает возможность осуществлять генотипирование на основе амплификации тандемных повторов, а также гена *ompA*. Метод позволяет

Используемые методы генотипирования *Chlamydia trachomatis* в ряде стран ЕвропыThe methods used for genotyping *Chlamydia trachomatis* in some European countries

Автор, год	Страна	Генотипы	Метод генотипирования	К-во и вид исследованных образцов
О. С. Полуян с соавт., 2009 [15]	Беларусь	D (65 %), K (50 %), E (38,3 %)	Секвенирование <i>ompA</i>	60 (мазки-соскобы из УГТ)
А. Н. Асташонок, 2016 [16]	Беларусь	D (51,22 %), K (31,72 %), В и G (по 7,31 %), J (2,44 %)	Секвенирование <i>ompA</i>	41 (мазки-соскобы из УГТ)
В. В. Слободенюк с соавт., 2009 [17]	Россия	K (46,2 %), G (23,1 %), E (19,2 %), F (7,7 %), J (3,8 %)	ПДРФ <i>ompA</i>	26 (мазки-соскобы из УГТ)
В. Смелов с соавт., 2009 [18]	Россия	E (33,1 %), G/Ga (24,7 %), J (9,6 %), D/Da и F (по 8,4 %), K (7,8 %), B (4,8 %), H (3 %)	ДНК-зонды	179 (мазки-соскобы из УГТ)
О. А. Белозорова, 2010 [2]	Украина	F (29,4 %), E (23,5 %), G (19,1 %), B (14,7 %), I и K (по 4,4 %), J (2,94 %), D и H (по 1,47 %)	ПДРФ <i>ompA</i>	68 (мазки-соскобы из УГТ)
О. А. Литовченко, 2011 [4]	Украина	E (24,02 %), G (23,46 %), F (21,23 %), B (10,61 %), I (5,59 %), Ba и K (по 3,91 %), D (2,8 %), J и H (по 2,23 %)	ПДРФ <i>ompA</i>	179 (мазки-соскобы из УГТ)
B. Verdtteeg с соавт., 2015 [19]	Нидерланды	E (40,5 %), F (20,7 %), D (12,3 %)	MLST	439 (мазки-соскобы из УГТ)
L. Christerson с соавт., 2012 [20]	Швеция	G (37 %), D (27 %), J (18 %), E (7 %), F (5 %)	MLST	67 (ректальные мазки и моча)
P. Psarrakos с соавт., 2011 [21]	Греция	F (12,28 %), E (12,28 %), D (9,21 %), G (4,9 %), B и K (по 2,5 %), H и I (по 1,2 %)	Секвенирование <i>ompA</i>	51 (мазки-соскобы из УГТ и моча)
N. Fieser с соавт., 2013 [22]	Германия	E (46,5 %), F (20,9 %), K (14,0 %)	Секвенирование <i>ompA</i>	Н/д
L. Pineiro с соавт., 2014 [23]	Испания	E (41 %), D (19 %), F (13 %), G (11 %), J (7 %)	Секвенирование <i>ompA</i>	565 (мазки-соскобы из УГТ и моча)
P. Stefanelli с соавт., 2015 [24]	Италия	E (70 %)	MLST	40 (мазки-соскобы из УГТ и моча)
F. X. Weill с соавт., 2010 [25]	Франция	E (34,3 %), F (23,9 %), Da (13,4 %), I (9 %), Ia (7,5 %)	ПДРФ <i>ompA</i>	102 (мазки-соскобы из УГТ и моча)

Примечание. ПДРФ – полиморфизм длины рестриционных фрагментов, MLST – мультилокусное секвенирование, УГТ – урогенитальный тракт, Н/д – нет данных.

определить количество tandemных повторов на locus благодаря праймерам, комплементарным высококонсервативным последовательностям, фланкирующим повторы. При использовании MLVA важным является тщательная и неоднократная проверка высокоизменчивых локусов VNTR, выбранных для MLVA, что означает необходимость пассирования возбудителя и повторное типирование. Эти результаты могут использоваться для эпидемиологического анализа только после подтверждения стабильного наследования исследуемых локусов [26].

На первом этапе MLVA-анализа проводят ПЦР с флуоресцентно-мечеными праймерами, а затем определяют размер ампликонов методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе. Подбор специфичных праймеров для определенного штамма *C. trachomatis* осуществляют на основании информации о количестве и расположении интересующих локусов VNTR (variable number tandem repeats) стандартных штаммов, представленной в открытой базе данных The Microorganisms Tandem Repeats Database (<http://minisatellites-rec.igmors.u-psud.fr/GPMS/>) [27]. Дальнейший анализ и расчет числа повторов ампликона производят исходя из размера фрагмен-

та и его фланкирующей области, числа нуклеотидов в повторе по сравнению с вычисленными для референсных штаммов *C. trachomatis*. Затем рассчитывают показатель полиморфизма VNTR с использованием дискриминационного индекса Hunter-Gaston (HGDI). Полученные данные в виде целых чисел объединяют в строку, и такая комбинация, обозначающая количество повторов для каждого локуса, является индивидуальным аллельным профилем штамма (MLVA-профиль). Биоинформационный анализ результатов MLVA-типирования осуществляют с применением программных комплексов типа Bionumerics v 6.01, благодаря которым визуализируются филогенетические отношения полученного MLVA-профиля и других изолятов и штаммов конкретного генотипа *C. trachomatis* [27].

Первые результаты о применении MLVA-анализа для *C. trachomatis* были опубликованы L. N. Pedersen и др. в 2008 г., согласно которым для типирования использовались ген *ompA* и три высоковариабельных тандемных повтора – CT1291, CT1299 и CT1335 [3]. Данная методика получила название MLVA-3.

Наиболее распространенная модификация MLVA-анализа для идентификации *C. trachomatis* является MLVA-5. Этот метод основан на определении пяти локусов VNTR – CT046 (*htcB*), CT456 (*tarp*), CT-719, CT868, CT872 (*pmrH*) – с помощью мультиплексной ПЦР и капиллярного электрофореза. Сравнительный анализ результатов MLVA-5 метода и трех других методов молекулярного типирования (секвенирование гена *ompA*, мультилокусное секвенс-типирование (MLST) и MLVA-3) показал его наивысшую разрешающую способность [27].

В исследовании Л. Н. Икриянниковой с соавт. [28] MLVA-метод имел дискриминационный индекс выше, чем MLST-5, MLST-7 и *ompA*-генотипирование (0,96 против 0,95; 0,81 и 0,82 соответственно). Также было показано, что MLVA может применяться для типирования клинических образцов, содержащих одновременно несколько генотипов возбудителя.

Мультилокусное секвенс-типирование (Multi Locus Sequence Typing, MLST) основано на установлении нуклеотидной последовательности небольших фрагментов (около 500 п. н.) генов «домашнего хозяйства», которые образуют генетический профиль организма и являются необходимыми для осуществления реакций основного метаболизма. Последовательности, характерные для каждого штамма *C. trachomatis*, представлены в базе данных MLST университета Уппсала (<http://mlstdb.bmc.uu.se>) и используются как эталонные при анализе результатов, полученных в ходе эксперимента.

Известны три схемы MLST, которые с успехом применяются с 2007 г. В двух системах типирования анализу подвергаются 7 генов домашнего хозяйства для определения общей популяционной структуры целого семейства хламидий [26]. Медленно эволюционирующие гены «домашнего хозяйства» являются генетически стабильными за счет обеспечения поддержания жизнедеятельности клеток. Поэтому MLST является наиболее подходящим инструментом для эволюционных исследований [3]. Третья схема для генотипирования, предложенная M. Klint с соавт. [7], основана на анализе точечных мутаций в 5 высоковариабельных генах (*hctB*, *CT058*, *CT144*, *CT172* и *pbpB*). Этот подход успешно используется и для идентификации «шведского» варианта *C. trachomatis* [26, 29].

Более того, MLST позволяет детализировать механизм патогенеза, антибиотикорезистентности и клеточного тропизма, а также подходит для глобальных эпидемиологических исследований [7].

MLVA- и MLST-методы показывают достаточно высокую дискриминационную способность, особенно при совместном использовании. Недостатком этих методов является то, что обе методики базируются на однораундовой ПЦР, однако эту ситуацию можно улучшить, адаптировав методы к гнездовой ПЦР, как показано в работе R. G. Vom с соавт. [30]. Это позволило исключить возможные ошибки секвенирования при анализе участков длиной более 1500 п. н. Другим существенным недостатком методов является обязательное применение секвенирования, что влечет за собой сложности генотипирования при инфицировании более чем одним генотипом *C. trachomatis* из-за наложения пиков на секвенограмме [3].

Метод определения полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДФФ, или Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) гена *ompA* используют чаще всего для опре-

деления генотипической принадлежности. К преимуществам данного метода, как и метода секвенирования, относится возможность определения генотипа непосредственно в клиническом образце, без предварительного пассирования в культуре клеток [4]. В основе этого подхода лежит гнездовая ПЦР-амплификация с двумя парами специфических праймеров, последующая обработка полученных ампликонов рестриктазами, разделение продуктов реакции с помощью вертикального электрофореза в полиакриламидном геле и визуализация на трансиллюминаторе [2]. Использование гнездовой ПЦР позволяет исследовать пробы с низкой бактериальной нагрузкой, что имеет большое преимущество по сравнению с обычным секвенированием гена *ompA* [3].

Каждый из генотипов характеризуется определенным специфическим для него набором фрагментов ДНК, которые образуются в результате действия специфических рестриктаз. При проведении ПДРФ-анализа *S. trachomatis* чаще всего используют рестриктазы AluI, HpyF31, HinfI, CfoI, Dde [2, 31]. Для характеристики спектра фрагментов, получаемых при расщеплении ампликонов гена *ompA* различных генотипов *S. trachomatis* рестриктазами, проводится моделирование данного процесса. Для этого необходимо получить нуклеотидные последовательности гена *ompA* всех известных генотипов возбудителя на сайте Национального центра биотехнологической информации США в базе данных (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>), выделить фрагменты последовательности, соответствующие размеру ампликона, а затем на сайте фирмы Rebase (<http://rebase.neb.com/rebase/rebtools.html>) с помощью опции Theoretical digests with all REBASE prototypes получить размеры фрагментов, образующихся при действии рестриктаз [2].

Метод нашел широкое применение за счет простоты использования и высокой степени сопоставимости с другими результатами генотипирования. Вместе с тем данный метод не дает полной картины изменчивости, происходящей во всем геноме *S. trachomatis*, что важно для получения более детальной характеристики возбудителя [3].

ПЦР со случайными праймерами (Random Amplification of Polymorphic DNA, RAPD) – вариант ПЦР со случайной амплификацией неизвестного участка генома. Затравкой для синтеза ПЦР-фрагментов на ДНК-матрице является один короткий праймер (длиной менее 10 п. н.) с низкой температурой отжига (около 40 °С), что в процессе ПЦР приводит к образованию множества фрагментов, длина которых зависит от распределения вдоль ДНК места посадки праймеров, расположенных напротив друг друга [32]. На основании образующихся профилей полос при электрофоретической детекции в агарозном геле делают вывод о принадлежности исследуемого образца ДНК *S. trachomatis* к определенному генотипу. Эффективность RAPD зависит от правильности выбора локуса. Преимуществами этого метода является отсутствие общих профилей для штаммов различных видов хламидий и возможность работы с ДНК неизвестной последовательности. RAPD является альтернативной процедурой молекулярно-генетического исследования возбудителя [31, 32]. На сегодняшний день этот метод не находит широкого применения в исследованиях по генотипированию *S. trachomatis*, что обусловлено возможным образованием идентичных полос на электрофореграмме ампликонов штаммов разных серотипов, а следовательно, и расхождением с результатами серотипирования [31].

Анализ полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) является комбинацией ПДРФ и ПЦР. Для целей AFLP генотипирования также используются эндонуклеазы, которые необходимы на первом этапе для рестрикции геномной ДНК. Затем рестрикты лигируются с адапторами, содержащими «липкие» концы, комплементарные праймеру, после чего следуют две последовательные ПЦР-амплификации: преамплификация для синтеза большого количества копий рестрицированных фрагментов ДНК и селективная (избирательная) ПЦР-амплификация (рис. 2).

Разделение фрагментов ДНК выполняется в полиакриламидном геле при проведении обычного или автоматического электрофореза с радиоактивной или флуоресцентной меткой. Чувствительность автоматической детекции ПЦР-продуктов, техники FAFLP (Fluorescent AFLP) очень высока и позволяет разделить фрагменты с разницей в 1 п. о. Компьютерный анализ числа и размера образующихся фрагментов ДНК дает возможность реконструировать их филогенетические связи [32].

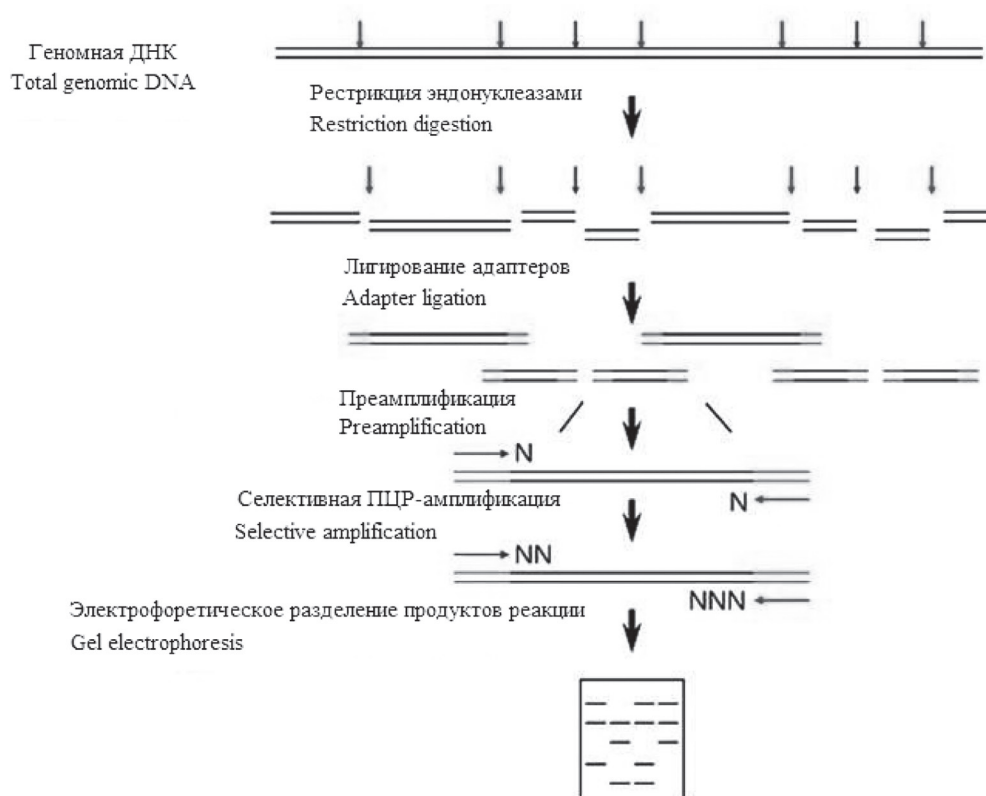


Рис. 2. Последовательная схема AFLP

Fig. 2. Successive scheme of AFLP

При генотипировании с помощью AFLP-анализа для расщепления ДНК *C. trachomatis* чаще всего используют рестриктазы EcoRI и MseI. По паттерну образовавшихся фрагментов определяют генотип, а также различия между штаммами одного генотипа [33].

Конкретным преимуществом AFLP-анализа по сравнению с традиционно применяемыми методами является возможность использования небольших количеств ДНК (от 10 до 50 нг) и ее воспроизводимость за счет анализа стабильных и надежных маркеров AFLP [33].

В литературе показана необходимость учитывать не только информацию о гене *ompA*, но и данные о полиморфизме генов, кодирующих другие белки возбудителя. Показана возможность использования для генотипирования хламидий полиморфизма еще одного белка – транслоцированного актин-рекрутирующего фосфопротеина (Tarp) (одного из эффекторов третьего типа секреции) по количеству тирозиновых доменов (ТД) в его молекуле [34].

Методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот. К числу этих методов относят ДНК-гибридизацию RLB-h (reverse line blot hybridization), RDB-h (reverse dot blot hybridization) и MSA-h (microsphere suspension array hybridisation). Эта группа методов основывается на комбинации ПЦР и блоттинга. Применение меченых олигонуклеотидных зондов, сконструированных под каждый генотип, может использоваться как для генотипирования, так и для обнаружения микстгенотипной формы инфекции *C. trachomatis* [3].

В случае RLB-h используется нейлоновая мембрана, к которой при помощи амина пришиты ДНК-зонды (их число может достигать 43). С помощью одной такой мембраны можно тестировать 45 образцов. При добавлении амплифицированной, предварительно денатурированной и меченой биотином ДНК *C. trachomatis* происходит гибридизация с ДНК-зондом. Образовавшийся комплекс далее обрабатывается стрептовидин-пероксидазой, в результате чего стрептоavidин связывается с биотином. После промывания мембрану инкубируют в растворе хемолуминесцентного реагента, а затем помещают в экспозиционный картридж в темной комнате с красным

светом, покрывают рентгеновской пленкой и выдерживают в течение 7–10 мин. В случае положительного результата гибридизации происходит образование темного пятна вследствие реакции пероксидазы и хемолюминисцентного реагента.

Большим преимуществом этого метода является возможность использования такой меченой мембраны несколько раз, что весьма экономично. В работе L. Xiong с соавт. [35] описано применение этого метода для генотипирования и идентификации микст-инфекции, обусловленной разными генотипами *C. trachomatis*. Авторами были сконструированы специфические для каждой серогруппы ДНК-зонды, которые гибридизовались с участком гена *ompA*, кодирующим второй вариабельный домен MOMP, или с участком криптической плазмиды. Кроме того, показана 90 %-ная сопоставимость идентификации *C. trachomatis* данным методом с результатами коммерческой тест-системы COBAS AMPLICOR, определено количество случаев с моно- и микст-инфекцией, а также проведено генотипирование [35]. Основным недостатком метода RLB-h считается трудоемкость и долгий процесс (до 2 сут) подготовки компонентов для проведения анализа.

Методы RLB-h и RDB-h в основе своей схожи, однако второй считается более простым и легким [3], поскольку при его применении для анализа одного образца используется только одна нейлоновая мембрана, а детекция результатов не требует вспомогательного оборудования. Реакцию гибридизации регистрируют как положительную в результате образования пятна на мембране после последовательного применения конъюгата (анти-дигоксигенин-щелочной фосфатазы) и субстрата (5-бром-4-хлор-3-индолилфосфат/нитро-синего тетразолия (BCIP/NBT)) [36].

MSA-h представляет собой быструю и простую методику генотипирования и детекции *C. trachomatis*, при которой используются микросферы, соединенные с мишень-специфическими зондами. При связывании зондов со специфическими участками на ДНК благодаря присутствию в среде стрептавидина и фикоэритрина происходит образование конечного компонента реакции, детекция флуоресцентного сигнала которого регистрируется с помощью проточного цитометра [37]. Микросферы могут содержать различные типы и количество зондов, что позволяет выполнять несколько реакций в одной среде. J. J. Zhang с соавт. [37] показана возможность масштабного генотипирования (выборка из 2534 образцов) и определения преобладающих генотипов *C. trachomatis* и их комбинаций.

Существенными недостатками вышеуказанных методов, ограничивающих их широкое применение, является их низкая разрешающая способность по сравнению с методами, основанными на секвенировании ДНК, а также невозможность обнаружения «шведского», бесплазмидного и новых мутантных геновариантов патогена.

К современным методам, основанным на гибридизации нуклеиновых кислот для обнаружения и генотипирования *C. Trachomatis*, относят также метод ДНК-микрочипов. В 2011 г. A. Ruettinger с соавт. [38] описано использование MLT-DNA (multilocus typing DNA) для генотипирования с помощью 61 олигонуклеотидного генотип-специфического биотинилированного зонда. Последние связываются с сайтами ДНК *C. trachomatis* в 1, 2 и 4-м вариабельных доменах *ompA*, отвечающих за полиморфизм. В результате определяется «паттерн гибридизации», специфический для определенного генотипа.

В том же году L. Christerson с соавт. на основе применения ДНК-микрочипов разработали систему MLT-DNA, состоящую из олигонуклеотидных зондов к 4 локусам ДНК, используемым при MLST-анализе, и к гену *ompA* *C. trachomatis*. Метод является менее затратным по сравнению с MLST, имеет упрощенную процедуру регистрации результатов с помощью программного обеспечения и обладает сопоставимой чувствительностью [39].

Полногеномное секвенирование является идеальным методом для генотипирования, а также мощным инструментом эволюционных и эпидемиологических исследований.

Расшифровка нуклеотидной структуры генома *C. trachomatis* активно началась с 2012 г. [40, 41]. Тогда было выдвинуто предположение, что секвенирование гена *ompA* является недостаточным для воссоздания филогенетических отношений циркулирующих штаммов возбудителя. Поэтому для получения достоверной информации об эволюции, рекомбинационных процессах и возможных мутациях необходимо исследовать полный геном возбудителя [41].

Одним из недостатков полногеномного секвенирования до недавнего времени являлась необходимость пассирования возбудителя в культуре клеток. Это препятствие на пути к широкомасштабным геномным исследованиям было устранено с помощью метода иммуномагнитной сепарации, который основан на использовании металлических сфер конъюгированных с антителами к МOMP белку. Такая конструкция, предполагающая концентрацию *C. trachomatis* и их изоляцию от других клеток, присутствующих в биологическом материале человека, предоставляет возможность для прямого секвенирования. Другим методом, позволяющим избежать культивирования, но добиться обогащения целевых последовательностей генома *C. trachomatis*, может быть мультиплексная microdroplet-ПЦР. Подобная методика разработана для участка хламидийного генома протяженностью только 100 кб, но исследователи считают возможным доработать метод для обогащения целого генома *C. trachomatis* и использования подобной технологии для полногеномного секвенирования [3].

Серьезными недостатками, не позволяющими широко использовать полногеномное секвенирование, являются необходимость закупки дорогостоящего оборудования, реагентов и расходных материалов, а также долгий процесс (до 7 сут) постановки реакций и обработки результатов.

Заключение. Методы генотипирования активно развиваются и совершенствуются: разрабатываются и модернизируются биоинформационные базы данных, повышается уровень автоматизации и точность генотипирования. В настоящее время использование методов молекулярного типирования является полезным и незаменимым инструментом для эпидемиологических исследований, обнаружения новых генотипов или геновариантов и понимания роли различных генетических детерминант *C. trachomatis*, лежащих в основе патофизиологических механизмов заболевания. Только молекулярно-эпидемиологические исследования дают детальное представление о динамике и цепочках передачи хламидийной инфекции и, следовательно, позволяют выявить конкретные группы риска.

Полученная уникальная информация может быть использована для разработки программ скрининга и мониторинга хламидийной урогенитальной инфекции, создания вакцины, организации целенаправленной профилактики и повышения эффективности противохламидийного лечения. В ряде стран мира (Швеция, Нидерланды и др.) активно внедряется система молекулярно-эпидемиологического слежения за *C. trachomatis*. В нашей стране проведены только отдельные фрагментарные исследования по изучению генотипического разнообразия популяции патогена. Налаживание единой системы молекулярно-эпидемиологического мониторинга на национальном уровне позволило бы усовершенствовать эпидемиологический надзор и повысить эффективность контроля над урогенитальной хламидийной инфекцией в Республике Беларусь.

Исходя из изложенного выше, широко используемые для генотипирования *C. trachomatis* MLVA и MLST методы и их модификации являются более предпочтительными.

Список использованных источников

1. Identification of proteins differentially expressed by *Chlamydia trachomatis* treated with chlamydiaophage capsid protein VP1 during intracellular growth / J. Ma [et al.] // Arch. Microbiol. – 2017. – Vol. 199, N 8. – P. – 1121–1131. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1381-2>
2. Белозорова, О. А. Превалирующие генотипы *Chlamydia trachomatis* у больных урогенитальным хламидиозом Харьковской области / О. А. Белозорова // Вісн. Харків. нац. університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2010. – Вип. 11. – С. 55–59.
3. Rawre, J. Molecular typing of *Chlamydia trachomatis*: an overview / J. Rawre, D. Juyal, B. Dhawan // Indian J. Med. Microbiol. – 2017. – Vol. 35, N 1. – P. 17–26. https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_16_341
4. Литовченко, О. А. Генотипирование *Chlamydia trachomatis*, выявленных в образцах, полученных у больных с урогенитальной патологией в северо-восточном регионе Украины / О. А. Литовченко // Ann. Mechnikov Institute. – 2011. – Т. 4. – С. 314–315.
5. Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterization / R. S. Stephens [et al.] // J. Immunol. – 1982. – Vol. 128. – P. 1083–1089.
6. Simplified microimmunofluorescence test with trachoma-lymphogranuloma venereum (*Chlamydia trachomatis*) antigens for use as a screening test for antibody / S. P. Wang [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1975. – Vol. 1, N 3. – P. 250–255.
7. High-resolution genotyping of *Chlamydia trachomatis* strains by multilocus sequence analysis / M. Klint [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, N 5. – P. 1410–1414. <https://doi.org/10.1128/JCM.02301-06>

8. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars / Y. Yuan [et al.] // *Infection and Immunity*. – 1989. – Vol. 57, N 4. – P. 1040–1049.
9. The evolutionary history of the genus *Acanthamoeba* and the identification of eight new *18S rRNA* gene sequence types / D. R. Stothard [et al.] // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 1998. – Vol. 45, N 1. – P. 45–54. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1998.tb05068.x>
10. Genetic variability among *Chlamydia trachomatis* reference and clinical strains analyzed by pulsed-field gel electrophoresis / P. Rodriguez [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1994. – Vol. 32, N 12. – P. 2921–2928.
11. Characterization of *ompA* genotypes by sequence analysis of DNA from all detected cases of *Chlamydia trachomatis* infections during 1 year of contact tracing in a Swedish County / M. Lysen [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2004. – Vol. 42, N 4. – P. 1641–1647. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.4.1641-1647.2004>
12. The first case record of a female patient with bubonic lymphogranuloma venereum (LGV), serovariant L2b / S. P. Verweij [et al.] // *Sexually Transmitted Infections*. – 2012. – Vol. 88, N 5. – P. 346–347. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2011-050298>
13. A multi-component prime-boost vaccination regimen with a consensus MOMP antigen enhances *Chlamydia trachomatis* clearance / A. Badamchi-Zadeh [et al.] // *Front. Immunol.* – 2016. – Vol. 7. – Art. 162. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00162>
14. Characterization of *Chlamydia trachomatis omp1* genotypes among sexually transmitted disease patients in Sweden / M. Jurstrand [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2001. – Vol. 39, N 11. – P. 3915–3919. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.11.3915-3919.2001>
15. Изучение распределения различных серотипов *C. trachomatis* и молекулярно-биологических свойств возбудителей / О. С. Полуян [и др.] // *Мед. новости*. – 2009. – № 8. – С. 82–86.
16. Асташонок, А. Н. Фено- и генотипическая характеристика *Chlamydia trachomatis* и детекция возбудителя с использованием флуоресцентных иммуномагнитных наночастиц : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / А. Н. Асташонок. – М., 2016. – 123 л.
17. ПЦР-детекция и идентификация возбудителей хламидийных инфекций человека и обезьян / В. В. Слободенюк [и др.] // *Имунопатология, аллергология, инфектология*. – 2009. – № 3. – С. 54–62.
18. *Chlamydia trachomatis* serovar distributions in Russian men and women: a comparison with dutch serovar distributions / V. Smelov [et al.] // *Drugs Today*. – 2009. – Vol. 45, suppl. B. – P. 33–38.
19. Urogenital *Chlamydia trachomatis* strain types, defined by high-resolution multilocus sequence typing, in relation to ethnicity and urogenital symptoms among a young screening population in Amsterdam, The Netherlands / B. Versteeg [et al.] // *Sexually Transmitted Infections*. – 2015. – Vol. 91, N 6. – P. 415–422. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2014-051790>
20. *Chlamydia trachomatis* strains show specific clustering for men who have sex with men compared to heterosexual populations in Sweden, the Netherlands, and the United States / L. Christerson [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2012. – Vol. 50, N 11. – P. 3548–3555. <https://doi.org/10.1128/JCM.01713-12>
21. *Chlamydia trachomatis ompA* genotypes in male patients with urethritis in Greece: conservation of the serovar distribution and evidence for mixed infections with *Chlamydia abortus* / P. Psarracos [et al.] // *Mol. Cell. Probes*. – 2011. – Vol. 25, N 4. – P. 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2011.04.003>
22. *Chlamydia trachomatis* prevalence, genotype distribution and identification of the new Swedish variant in Southern Germany / N. Fieser [et al.] // *Infection*. – 2013. – Vol. 41, N 1. – P. 159–166. <https://doi.org/10.1007/s15010-012-0301-2>
23. Minimum spread of the new Swedish variant of *Chlamydia trachomatis* and distribution of *C. trachomatis ompA* genotypes in three geographically distant areas of Spain, 2011–2012 / L. Pineiro [et al.] // *Infection*. – 2014. – Vol. 42, N 5. – P. 905–912. <https://doi.org/10.1007/s15010-014-0665-6>
24. *Chlamydia trachomatis* genotypes in school adolescents, Italy / P. Stefanelli [et al.] // *Infection*. – 2015. – Vol. 43, N 6. – P. 739–741. <https://doi.org/10.1007/s15010-015-0787-5>
25. Serological reactivity and bacterial genotypes in *Chlamydia trachomatis* urogenital infections in Guadeloupe, French West Indies / F.-X. Weill [et al.] // *Sexually Transmitted Infections*. – 2010. – Vol. 86, N 5. – P. 101–105. <https://doi.org/10.1136/sti.2009.037036>
26. Genotyping markers used for multilocus VNTR analysis with *ompA* (MLVA-*ompA*) and multi sequence typing (MST) retain stability in *Chlamydia trachomatis* / C. Labiran [et al.] // *Cell. Infect. Microbiol.* – 2012. – Vol. 2. – Art. 68. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00068>
27. MLVA subtyping of genovar E *Chlamydia trachomatis* individualizes the Swedish variant and anorectal isolates from men who have sex with men [Electronic resource] / O. Peuchant [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, N 2. – P. e31538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031538>
28. Comparative evaluation of new typing schemes for urogenital *Chlamydia trachomatis* isolates / L. N. Ikryannikova [et al.] // *Immunol. Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 59, N 2. – P. 188–196. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00678.x>
29. Ten years transmission of the new variant of *Chlamydia trachomatis* in Sweden: prevalence of infections and associated complications / J. Dahlberg [et al.] // *Sexually Transmitted Infections*. – 2018. – Vol. 94, N 2. – P. 100–104. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2016-052992>
30. Evaluation of high-resolution typing methods for *Chlamydia trachomatis* in samples from heterosexual couples / R. J. Bom [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2011. – Vol. 49, N 8. – P. 2844–2853. <https://doi.org/10.1128/JCM.00128-11>
31. Molecular typing of *Chlamydia trachomatis* by random amplification of polymorphic DNA / C. Scieux [et al.] // *Res. Microbiol.* – 1993. – Vol. 144, N 5. – P. 395–404.
32. Методы генотипирования бактерий: фрагментный анализ / Е. С. Сколотнева [и др.] / *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. – 2014. – № 2. – С. 13–21.
33. Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? / S. A. Morré [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2000. – Vol. 38, N 6. – P. 2292–2296.

34. Литовченко, О. А. Генотипирование *Chlamydia trachomatis* на основе полиморфизма главного белка наружной мембраны и транслоцированного актин-рекрутирующего фосфопротеина / О. А. Литовченко // Имунологія та алергологія: наука і практика. – 2012. – № 3. – С. 66–68.

35. Use of PCR and reverse line blot hybridization assay for rapid simultaneous detection and serovar identification of *Chlamydia trachomatis* / L. Xiong [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44, N 4. – P. 1413–1418. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.4.1413-1418.2006>

36. Stothard, D. R. Use of a reverse dot blot procedure to identify the presence of multiple serovars in *Chlamydia trachomatis* urogenital infection / D. R. Stothard // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39, N 7. – P. 2655–2659. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.7.2655-2659.2001>

37. Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in Shenzhen, China / J.-J. Zhang [et al.] // Sexually Transmitted Infections. – 2012. – Vol. 88, N 4. – P. 272–277. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2011-050163>

38. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* strains from culture and clinical samples using an *ompA*-based DNA microarray assay / A. Ruettger [et al.] // Mol. Cell. Probes. – 2011. – Vol. 25, N 1. – P. 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2010.09.004>

39. Christerson, L. High-resolution genotyping of *Chlamydia trachomatis* by use of a novel multilocus typing DNA microarray / L. Christerson [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49, N 8. – P. 2838–2843. <https://doi.org/10.1128/JCM.00883-11>

40. Population genomics of *Chlamydia trachomatis*: insights on drift, selection, recombination, and population structure / S. J. Joseph [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2012. – Vol. 29, N 12. – P. 3933–3946. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss198>

41. Whole genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing / S. R. Harris [et al.] // Nat. Genet. – 2012. – Vol. 44, N 4. – P. 413–419. <https://doi.org/10.1038/ng.2214>

References

1. Ma J., Sun Y., Sun C., Zhou Q., Qi M., Kong J., Wang J., Liu Y., Liu Q. Identification of proteins differentially expressed by *Chlamydia trachomatis* treated with chlamydia phage capsid protein VP1 during intracellular growth. *Archives of Microbiology*, 2017, vol. 199, no. 8, pp. 1121–1131. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1381-2>

2. Belozorova O. A. Prevalent genotypes of *Chlamydia trachomatis* in patients with urogenital chlamydiosis in Kharkiv region. *Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo universitetu imeni V. N. Karazina. Seriya «Biologiya»* [Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series “Biology”], 2010, iss. 11, pp. 55–59 (in Russian).

3. Rawre J., Juyal D., Dhawan B. Molecular typing of *Chlamydia trachomatis*: an overview. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2017, vol. 35, no. 1, pp. 17–26. https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_16_341

4. Litovchenko O. A. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* obtained from patients with urogenital pathology in north-west region of Ukraine. *Annals of Mechnikov Institute*, 2011, vol. 4, pp. 314–315 (in Russian).

5. Stephens R. S., Tam M. R., Kuo C. C., Nowinski R. C. Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterization. *Journal of Immunology*, 1982, vol. 128, pp. 1083–1089.

6. Wang S. P., Grayston J. T., Alexander E. R., Holmes K. K. Simplified microimmunofluorescence test with trachoma-lymphogranuloma venereum (*Chlamydia trachomatis*) antigens for use as a screening test for antibody. *Journal of Clinical Microbiology*, 1975, vol. 1, no. 3, pp. 250–255.

7. Klint M., Fuxelius H.-H., Goldkuhl R. R., Skarin H., Rutemark C., Andersson S. G., Persson K., Herrmann B. High-resolution genotyping of *Chlamydia trachomatis* strains by multilocus sequence analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, vol. 45, no. 5, pp. 1410–1414. <https://doi.org/10.1128/JCM.02301-06>

8. Yuan Y., Zhang Y. X., Watkins N. G., Caldwell H. D. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infection and Immunity*, 1989, vol. 57, no. 4, pp. 1040–1049.

9. Stothard D. R., Schroeder-Diedrich J. M., Awwad M. H., Gast R. J., Ledee D. R., Rodriguez-Zaragoza S., Dean C. L., Fuerst P. A., Byers T. J. The evolutionary history of the genus *Acanthamoeba* and the identification of eight new *18S rRNA* gene sequence types. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 1998, vol. 45, no. 1, pp. 45–54. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1998.tb05068.x>

10. Rodriguez P., Allardet-Servent A., de Barbeyrac B., Ramuz M., Bebear C. Genetic variability among *Chlamydia trachomatis* reference and clinical strains analyzed by pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, 1994, vol. 32, no. 12, pp. 2921–2928.

11. Lysen M., Osterlund A., Rubin C. J., Persson T., Persson I., Herrmann B. Characterization of *ompA* genotypes by sequence analysis of DNA from all detected cases of *Chlamydia trachomatis* infections during 1 year of contact tracing in a Swedish County. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, vol. 42, no. 4, pp. 1641–1647. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.4.1641-1647.2004>

12. Verweij S. P., Ouburg S., de Vries H., Morré S. A., van Ginkel C. J., Bos H., Sebens F. W. The first case record of a female patient with bubonic lymphogranuloma venereum (LGV), serovariant L2b. *Sexually Transmitted Infections*, 2012, vol. 88, no. 5, pp. 346–347. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2011-050298>

13. Badamchi-Zadeh A., McKay P. F., Korber B. T., Barinaga G., Walters A. A., Nunes A., Gomes J. P., Follmann F., Trengoning J. S., Shattock R. J. A multi-component prime-boost vaccination regimen with a consensus MOMP antigen enhances *Chlamydia trachomatis* clearance. *Frontiers in Immunology*, 2016, vol. 7, art. 162. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00162>

14. Jurstrand M., Falk L., Fredlund H., Lindberg M., Olcen P., Andersson S., Persson K., Albert J., Backman A. Characterization of *Chlamydia trachomatis omp1* genotypes among sexually transmitted disease patients in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, vol. 39, no. 11, pp. 3915–3919. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.11.3915-3919.2001>

15. Poluyan O. S., Kostyuk S. A., Kolomiets N. D., Poleshchuk N. N., Rudenkova T. V. A study of the distribution of various *C. trachomatis* serotypes and the molecular-biological properties of pathogens. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2009, no. 8, pp. 82–86 (in Russian).
16. Astashonok A. N. *Pheno- and genotypic characteristics of Chlamydia trachomatis and detection of the pathogen using fluorescent immunomagnetic nanoparticles*. Ph. D. Thesis. Minsk, 2016. 123 p. (in Russian).
17. Slobodenyuk V. V., Aleshkin V. A., Lapin B. A., Afanas'ev S. S., Kokushkov D. V., Grechishnikova O. G [et al.]. PCR-detection and identification of chlamydia infections pathogens of human and monkeys. *Immunopatologija, allergologija, infekciologija* [Immunopathology, allergology, infectology], 2009, no. 3, pp. 54–62 (in Russian).
18. Smelov V., Quint K. D., Pleijster J., Savelkoul P. H., Shalepo K., Shipitsyna E. [et al.]. *Chlamydia trachomatis* serovar distributions in russian men and women: a comparison with dutch serovar distributions. *Drugs of Today*, 2009, vol. 45, suppl. B, pp. 33–38.
19. Versteeg B., Himschoot M., van den Broek I. V., Bom R. J. M., Speksnijder A. G., Schim van der Loeff M. F., Bruisten S. M. Urogenital *Chlamydia trachomatis* strain types, defined by high-resolution multilocus sequence typing, in relation to ethnicity and urogenital symptoms among a young screening population in Amsterdam, The Netherlands. *Sexually Transmitted Infections*, 2015, vol. 91, no. 6, pp. 415–422. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2014-051790>
20. Christerson L., Bom R. J. M., Bruisten S. M., Yass R., Hardick J., Bratt G., Gaydos C. A., Morre S. A., Herrmann B. *Chlamydia trachomatis* strains show specific clustering for men who have sex with men compared to heterosexual populations in Sweden, the Netherlands, and the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, vol. 50, no. 11, pp. 3548–3555. <https://doi.org/10.1128/JCM.01713-12>
21. Psarrakos P., Papadogeorgakis E., Sachse K., Vretou E. *Chlamydia trachomatis ompA* genotypes in male patients with urethritis in Greece: conservation of the serovar distribution and evidence for mixed infections with *Chlamydothrix abortus*. *Molecular and Cellular Probes*, 2011, vol. 25, no. 4, pp. 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2011.04.003>
22. Fieser N., Simnacher U., Tausch Y., Werner-Belak S., Ladenburger-Strauss S., von Baum H., Reischl U., Essig A. *Chlamydia trachomatis* prevalence, genotype distribution and identification of the new Swedish variant in Southern Germany. *Infection*, 2013, vol. 41, no. 1, pp. 159–166. <https://doi.org/10.1007/s15010-012-0301-2>
23. Piñeiro L., Bernal S., Bordes A., Palomares J.C., Gilarranz R., von Wichmann M. A., Cilla G. Minimum spread of the new Swedish variant of *Chlamydia trachomatis* and distribution of *C. trachomatis ompA* genotypes in three geographically distant areas of Spain, 2011–2012. *Infection*, 2014, vol. 42, no. 5, pp. 905–912. <https://doi.org/10.1007/s15010-014-0665-6>
24. Stefanelli P., Sulis G., Renna G., Gargiulo F., Zanotti P., Capelli M., De Francesco M. A., Donato F., Pecorelli S., Matteelli A. *Chlamydia trachomatis* genotypes in school adolescents, Italy. *Infection*, 2015, vol. 43, no. 6, pp. 739–741. <https://doi.org/10.1007/s15010-015-0787-5>
25. Weill F.-X., le Hello S., Clerc M., Scribans C., de Barbeyrac B. Serological reactivity and bacterial genotypes in *Chlamydia trachomatis* urogenital infections in Guadeloupe, French West Indies. *Sexually Transmitted Infections*, 2010, vol. 86, no. 5, pp. 101–105. <https://doi.org/10.1136/sti.2009.037036>
26. Labiran C., Clarke I. N., Cutcliffe L. T., Wang Y., Skilton R. J., Persson K., Bjartling C., Herrmann B., Christerson L., Marsh P. Genotyping markers used for multilocus VNTR analysis with *ompA* (MLVA-*ompA*) and multi sequence typing (MST) retain stability in *Chlamydia trachomatis*. *Cellular and Infection Microbiology*, 2012, vol. 2, art. 68. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00068>
27. Peuchant O., le Roy C., Herrmann B., Clerc M., Bebear C., de Barbeyrac B. MLVA subtyping of genovar E *Chlamydia trachomatis* individualizes the Swedish variant and anoctal isolates from men who have sex with men. *PLoS One*, 2016, vol. 7, no. 2, p. e31538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031538>
28. Ikryannikova L. N., Shkarupeta M. M., Shitikov E. A., Il'ina E. N., Govorun V. M. Comparative evaluation of new typing schemes for urogenital *Chlamydia trachomatis* isolates. *Immunology and Medical Microbiology*, 2010, vol. 59, no. 2, pp. 188–196. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00678>
29. Dahlberg J., Hadad R., Elfving K., Larsson I., Isaksson J., Magnuson A., Fredlund H., Unemo M., Herrmann B. Ten years transmission of the new variant of *Chlamydia trachomatis* in Sweden: prevalence of infections and associated complications. *Sexually Transmitted Infections*, 2018, vol. 94, no. 2, pp. 100–104. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2016-052992>
30. Bom R. J., Christerson L., Schim van der Loeff M. F., Coutinho R. A., Herrmann B., Bruisten S. M. Evaluation of high-resolution typing methods for *Chlamydia trachomatis* in samples from heterosexual couples. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, vol. 49, no. 8, pp. 2844–2853. <https://doi.org/10.1128/JCM.00128-11>
31. Scieux C., Grimont F., Regnault B., Bianchi A., Kowalski S., Grimont P. A. Molecular typing of *Chlamydia trachomatis* by random amplification of polymorphic DNA. *Research in Microbiology*, 1993, vol. 144, no. 5, pp. 395–404.
32. Skolotneva E. S., Volkova R. A., El'bert E. V., Mironov A. N., Merkulov V. A., Bondarev V. P., Borisevich I. V. Bacterial genotyping methods: banding pattern-based analysis. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOPreparations. prevention, diagnosis, treatment], 2014, no. 2, pp. 13–21 (in Russian).
33. Morré S. A., Rozendaal L., van Valkengoed I. G., Boeke A. J., van Voorst Vader P. C., Schirm J. [et al.]. Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, vol. 38, no. 6, pp. 2292–2296.
34. Litovchenko O. A. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* based on polymorphism of major outer membrane protein and translocated actinrecruiting phosphoprotein. *Imunologiya ta alergologiya: nauka i praktika* [Immunology and allergology: science and practice], 2012, no. 3, pp. 66–68 (in Russian).
35. Xiong L., Kong F., Zhou H., Gilbert G. L. Use of PCR and reverse line blot hybridization assay for rapid simultaneous detection and serovar identification of *Chlamydia trachomatis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, vol. 44, no. 4, pp. 1413–1418. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.4.1413-1418.2006>

36. Stothard D. R. Use of a reverse dot blot procedure to identify the presence of multiple serovars in *Chlamydia trachomatis* urogenital infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, vol. 39, no. 7, pp. 2655–2659. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.7.2655-2659.2001>
37. Zhang J.-J., Zhao G.-L., Wang F., Hong F.-C., Luo Z.-Z., Lan L.-N. [et al.]. Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in Shenzhen, China. *Sexually Transmitted Infections*, 2012, vol. 88, no. 4, pp. 272–277. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2011-050163>
38. Ruettger A., Feige J., Slickers P., Schubert E., Morre S. A., Pannekoek Y., Herrmann B., de Vries H. J., Ehricht R., Sachse K. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* strains from culture and clinical samples using an *ompA*-based DNA microarray assay. *Molecular and Cellular Probes*, 2011, vol. 25, no. 1, pp. 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2010.09.004>
39. Christerson L., Ruettger A., Gravningen K., Ehricht R., Sachse K., Herrmann B. High-resolution genotyping of *Chlamydia trachomatis* by use of a novel multilocus typing DNA microarray. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, vol. 49, no. 8, pp. 2837–2843. <https://doi.org/10.1128/JCM.00883-11>
40. Joseph S. J., Didelot X., Rothschild J., de Vries H. J., Morre S. A., Read T. D., Dean D. Population genomics of *Chlamydia trachomatis*: insights on drift, selection, recombination, and population structure. *Molecular Biology and Evolution*, 2012, vol. 29, no. 12, pp. 3933–3946. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss198>
41. Harris S. R., Clarke I. N., Seth-Smith H. M., Solomon A. W., Cutcliffe L. T., Marsh P. [et al.]. Whole genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing. *Nature Genetics*, 2012, vol. 44, no. 4, pp. 413–419. <https://doi.org/10.1038/ng.2214>

Информация об авторах

Капустина Юлия Михайловна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kapystinaj@gmail.com

Рубаник Людмила Владимировна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubaniklv@tut.by

Information about the authors

Yuliya M. Kapustina – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kapystinaj@gmail.com

Lyudmila V. Rubanik – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubaniklv@tut.by

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ
SCIENTISTS OF BELARUS**Памяти члена-корреспондента АН СССР Александра Аркадьевича Шлыка
(К 90-летию со дня рождения)**

1 ноября 2018 г. исполнилось 90 лет со дня рождения Александра Аркадьевича Шлыка – члена-корреспондента АН СССР, доктора биологических наук, профессора, организатора и первого директора Института фотобиологии АН БССР (с 2004 г. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси), ученого с мировым именем в области изучения биосинтеза хлорофилла и биогенеза фотосинтетического аппарата.

А. А. Шлык родился в Минске в семье служащих. В 1950 г. он с отличием окончил химический факультет Белорусского государственного университета имени В. И. Ленина. Свой трудовой путь А. А. Шлык начал в Институте биологии АН БССР в лаборатории академика АН БССР Т. Н. Годнева. В 1951 г. он поступил в аспирантуру Института биологии АН БССР. Его первая работа о роли фосфора в структуре хлоропласта в соавторстве с Т. Н. Годневым была опубликована в журнале «Доклады АН СССР» в 1952 г. В последующие годы научные интересы А. А. Шлыка были направлены на изучение процессов биосинтеза хлорофилла в зеленом растении. Разрабатывая методы хроматографического разделения и очистки хлорофиллов, А. А. Шлык впервые применил радиоактивные индикаторы для изучения метаболизма пигментов и в 1954 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Применение метода меченых атомов в исследовании химизма синтеза хлорофилла в природе». За сравнительно короткий период времени А. А. Шлык стал ведущим ученым в области фотосинтеза и фотобиологии, и уже в 1954 г. он был назначен заместителем директора Института биологии АН БССР, а в 1957 г. – руководителем созданной им Лаборатории биофизики и изотопов АН БССР. В 1963 г. А. А. Шлык защитил докторскую диссертацию на тему: «Исследование метаболизма хлорофилла в зеленом растении радиоизотопным методом». В 1965 г. ему было присуждено звание профессора, а в 1966 г. он был избран членом-корреспондентом АН СССР. В 1973 г. Лаборатория биофизики и изотопов АН БССР была реорганизована в Институт фотобиологии АН БССР. А. А. Шлык стал его директором и занимал эту должность вплоть до 1984 г.

Научная деятельность А. А. Шлыка по времени совпала со стремительным внедрением во все области биологии метода меченых атомов. Глубокое знание химии и тонкостей изотопного метода, умелое использование математического аппарата для всестороннего теоретического анализа экспериментального материала позволили ему за сравнительно небольшой срок получить результаты, ставшие фундаментальными в науке о биосинтезе хлорофилла в растении и его состоянии в фотосинтетической мембране. Сосредоточив внимание на изучении начальных этапов биосинтеза хлорофилла и его обновления, он доказал постоянство протекания этого процесса в течение всей жизни растения и раскрыл его физиологическое значение, установив прямое участие хлорофилла в обмене вещества зеленого растения, где он не только осуществляет акт фотосинтеза, но и сам является одним из продуктов метаболизма. Так возник термин «метаболизм хлорофилла» для обозначения ветви обмена веществ, обеспечивающей биосинтез и обновление пигментного фонда в зеленом растении.



Наличие метаболизма хлорофилла в растении поставило вопрос о взаимодействии в этом процессе двух главных пигментов – хлорофиллов *a* и *b*. В результате многолетних исследований биосинтетических взаимоотношений этих двух пигментов А. А. Шлык и его ученики пришли к выводу, что избирательно из особого подфонда молекул хлорофилла *a*, содержащего свежесформированные «молодые» молекулы пигмента, последовательно образуются *in vivo* молекулы хлорофилла *b*. Следует, однако, отметить, что применение современных молекулярно-генетических подходов, позволивших выявить гены, кодирующие ферменты синтеза хлорофилла *b*, изучить их свойства и клонировать продукты этих генов, дало представление о том, что преобразование метильной группы хлорофилла *a* в формильную группу хлорофилла *b* происходит на уровне хлорофиллидов *a* и *b* с помощью фермента хлорофиллид *a*-оксигеназы. Последующая эстерификация хлорофиллида *b* до хлорофилла *b* осуществляется хлорофилл-синтетазой. Возможно, история этого вопроса еще не закрыта и ждет своего продолжения и разумного объяснения. Тем не менее, идея А. А. Шлыка о рассмотрении фонда хлорофилла *a* как гетерогенной «по возрасту» системы послужила основой для доказательства метаболической гетерогенности хлорофилла в растении.

Открытие метаболической гетерогенности хлорофилла – одно из важнейших научных достижений А. А. Шлыка. Оно основывалось на экспериментальном доказательстве особого состояния свежесформированных «молодых» молекул пигмента в фотосинтетической мембране, объяснившим преимущественную экстракцию таких молекул малополярными растворителями. Свежесформированные молекулы хлорофилла характеризовались также особыми свойствами – они легче подвергались фотовыцветанию, гидролизу эндогенной и экзогенной хлорофиллазой, прижизненной феофитинизации, разрушению при действии ультразвука и длительном затемнении, т. е. находились в состоянии повышенной лабильности. От установления метаболической неоднородности пигментного фонда был переброшен мост к концепции метаболической гетерогенности фотосинтетических мембран. В частности, было показано концентрирование свежесформированных молекул хлорофилла в легких фрагментах фотосинтетических мембран, что предполагало наличие особых участков мембран, названных центрами биосинтеза хлорофилла (ЦБХ), из которых возникшие молекулы пигмента могут транспортироваться в сложноорганизованные фотосистемы для участия в фотосинтетическом акте. Предполагалось также, что функционирование ЦБХ обеспечивается высокоорганизованными полиферментными комплексами, осуществляющими как минимум заключительные стадии биосинтеза хлорофилла и его метаболизм. При этом не исключалось, что существует единый полиферментный комплекс, осуществляющий как начальные, так и конечные стадии процесса.

Гипотеза о существовании *in vivo* мультиферментного комплекса, осуществляющего биосинтез хлорофилла, в настоящее время подтверждается целой серией генетических и биохимических исследований. Так, показано существование двух типов надмолекулярных комплексов, участвующих в синтезе ключевого предшественника хлорофилла – 5-аминолевулиновой кислоты, разная структурная организация которых предопределяет их участие в синтезе хлорофильных или геминовых тетрапирролов. Имеется ряд доказательств наличия комплексов между порфириногендеаминазой и уропорфириноген III-синтетазой, протопорфириноген IX-оксидазой и феррохелатазой, магний-хелатазой и метилтрансферазой. Широко обсуждается модель надмолекулярного комплекса, участвующего в формировании «фотоактивной» и «фотонеактивной» форм протохлорофиллида. На основании экспериментальных данных предлагается модель надмолекулярного комплекса, состоящего из 7–8 мономеров протохлорофиллидоксиоредуктазы и 1 молекулы хлорофилл-синтетазы. Наряду с этим обнаружение переноса энергии между предшественниками хлорофилла, начиная от протопорфирина IX к протохлорофиллиду и далее к хлорофиллиду, означает, что эти интермедиаты синтезируются практически в одних и тех же участках мембран пластиды (центрах биосинтеза), что и позволяет им обмениваться поглощенной энергией. Это также свидетельствует о пространственной близости ферментов, участвующих в их образовании, и является еще одним доводом в пользу существования мультиферментного комплекса. Можно надеяться, что дальнейший прогресс в иммунохимических и визуализационных методах позволит экспериментально доказать существование такой сложноорганизованной надмолекулярной мультиферментной структуры.

«Корпускулярный» подход в представлениях о топографии и структурной организации процесса биосинтеза хлорофилла в мембранах хлоропласта оказался успешным при изучении регуляции образования хлорофилла. А. А. Шлык рассматривал любое воздействие на процесс формирования молекулы пигмента с двух сторон: воздействие как на число единиц, производящих хлорофилл, так и на производительность каждого отдельного центра. Таким образом, он стремился увидеть за сложными изменениями деятельности биосинтетического аппарата показатели, характеризующие активность каждой отдельной его биосинтетической единицы, и особенно оценить влияние на общее число таких единиц в исследуемой системе.

Интересным оказалось обнаружение существования нескольких типов ЦБХ, в которых функционировали разные механизмы контроля активности ферментной системы, отвечающей за синтез АЛК. Показано, что одни ЦБХ синтезируют только хлорофилл *a*, который формирует реакционные центры двух фотосистем фотосинтетического аппарата, функционирующих как на свету, так и в темноте. Другие ЦБХ активны только на свету и синтезируют хлорофиллы *a* и *b* для светособирающей антенны. Причиной светозависимости синтеза АЛК, по-видимому, является использование данным типом центров исключительно фотосинтетических энергетических и восстановительных субстратов – АТФ и НАДФ-Н. Это означает, что сам фотосинтетический аппарат управляет своим образованием, контролируя синтез входящего в его состав хлорофилла. Открытие гетерогенной системы ЦБХ с разными механизмами регуляции их активности может иметь глубокий биологический смысл и объяснять, в частности, один из важных путей адаптации фотосинтетического аппарата к меняющимся внешним условиям через изменение соотношения между реакционными центрами фотосистем и их светособирающими комплексами.

В последние годы А. А. Шлык особое внимание уделял изучению процесса формирования пигментного аппарата в ходе биогенеза фотосинтетических мембран. При этом с помощью современных методов было более детально выяснено, насколько система биосинтеза хлорофилла может быть сформирована в отсутствие света. В дополнение к хорошо известным данным о существовании в этиолированных листьях биосинтетического механизма, конечным продуктом которого является протохлорофиллид, в результате инфильтрации в этиолированные листья различных экзогенных субстратов были получены убедительные доказательства того, что в них имеются и ферментные системы, способные превращать хлорофиллид *a* в хлорофилл *a* и хлорофиллид *b* в хлорофилл *b*, а также осуществлять прямое и обратное превращение хлорофиллов *a* и *b*. Инициированные Александром Аркадьевичем иммунохимические исследования позволили выявить в этиопластах апобелки реакционных центров фотосистем и светособирающих комплексов, что в целом указывает на принципиальную возможность использования материала этиопластов в процессе биогенеза фотосинтетических мембран.

Особое место в работах А. А. Шлыка занимали исследования, позволившие выявить новый класс субмембранных частиц хлоропластов, которые сохраняют нативную молекулярную организацию и в которых осуществляются первичные фотофизические и фотохимические реакции фотосинтеза. Показано, что специфические для различных видов растений субмембранные частицы содержат относительно универсальные для фотосинтезирующих организмов блоки – пигмент-белковые комплексы, а также своеобразные по составу непигментированные белки и липиды.

А. А. Шлык – автор более чем 300 научных работ, в том числе двух монографий: «Метод меченых атомов в изучении биосинтеза хлорофилла» (1956) и «Метаболизм хлорофилла в зеленом растении» (1965). Обе монографии переизданы за границей. Ряд обзоров и статей написан по специальным заказам советских и иностранных издательств.

В качестве доцента (1957–1959 гг.), а потом профессора (1965–1970, 1981–1982 гг.) Александр Аркадьевич вел плодотворную педагогическую работу на химическом и биологическом факультетах БГУ им. В. И. Ленина, читая курс по изотопным методам исследования, биохимии и физиологии растений. Среди учеников А. А. Шлыка 8 докторов и 34 кандидата наук.

Александр Аркадьевич Шлык был крупным организатором науки. Его деятельность в качестве председателя Научного совета АН БССР по фотосинтезу и фотобиологии растений, заместителя председателя аналогичного совета АН СССР, заместителя председателя Межреспубликанского научного совета по проблеме «Сохранение, переработка и транспортировка сель-

скохозияственной продукции» и председателя Белорусской секции этого совета, члена бюро Отделения биологических наук АН БССР, члена совета Всесоюзного биохимического общества служила развитию фундаментальных научных и прикладных исследований в СССР.

А. А. Шлык был членом редколлегии журнала «Весті АН БССР. Серыя біялагічных навук», членом редакционных советов журналов «Биохимия», «Биофизика» и «Молекулярная биология», редколлегии международных журналов «Photosynthetica», «Physiologia Vegetable», «Photobiochemistry and Photobiophysics».

Огромное внимание Александр Аркадьевич уделял международному сотрудничеству ученых. С 1966 г. он руководил работами по исследованию биогенеза, структуры и функции фотосинтетического аппарата в связи с превращением солнечной энергии, проводимыми учеными стран – членов СЭВ, около 6 лет он возглавлял Белорусский республиканский комитет по Международной биологической программе, который координировал исследования научно-исследовательских институтов и высших учебных учреждений республики по самым разным направлениям биологии и медицины, был участником и организатором симпозиумов и секций на многих всесоюзных и международных конгрессах, где выступал с докладами на пленарных заседаниях. В 1981 г. на V Международном конгрессе по фотосинтезу он был избран в состав Международного комитета по фотосинтезу.

Заслуги А. А. Шлыка в развитии науки отмечены высокими правительственными наградами – орденом Трудового Красного Знамени, медалью «За доблестный труд в ознаменование 100-летия со дня рождения В. И. Ленина» и Почетной грамотой Верховного Совета БССР.

Основными чертами А. А. Шлыка как ученого являлись глубокая преданность науке, ясное видение и понимание ее узловых проблем. Чрезвычайно высокая требовательность к себе сочеталась в нем с удивительной работоспособностью. Научное наследие А. А. Шлыка, его труды, в которых отразились его широкая эрудиция и бесценный капитал идей, долго будут служить примером его последователям, кто избрал целью своей жизни работу в одной из самых важных областей биологических знаний – науке о фотосинтезе. Имя члена-корреспондента А. А. Шлыка, посвятившего себя изучению фотосинтетического аппарата растений и создавшего белорусскую школу фотосинтетиков, по праву стоит в ряду всемирно известных имен исследователей хлорофилла и фотосинтетического аппарата.

В октябре 2017 г. имя Александра Аркадьевича Шлыка было увековечено: в фойе биологического корпуса НАН Беларуси (ул. Академическая, 27) была открыта мемориальная доска в его честь. В июне 2018 г. состоялось заседание секции «Фотосинтез и фотобиология» в рамках Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» и 13-го съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, посвященное 90-летию со дня рождения А. А. Шлыка.

*И. Д. Волотовский, Н. Г. Аверина, Н. В. Шалыго,
Е. И. Слобожанина, Л. Ф. Кабашикова, А. Е. Гончаров*