

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІі НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2020. Т. 65, № 1

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2020. Т. 65, № 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 мая 2009 г.

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

Главный редактор

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

Редакционная коллегия

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

- Н. А. Ламан** – Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- А. Г. Лобанок** – Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- В. Е. Падутов** – Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь
- В. Н. Решетников** – Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- В. В. Титок** – Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Л. В. Хотылева** – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- С. Н. Черенкевич** – Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
- В. М. Шкуматов** – Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Р е д а к ц и о н н ы й с о в е т

- В. Ф. Багинский** – Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Гомель, Республика Беларусь
- А. Баршевский** – Даугавпилский университет, Даугавпилс, Латвийская Республика
- Я. Б. Блюм** – Институт пищевой биотехнологии и геномики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
- В. Е. Гайдук** – Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Брест, Республика Беларусь
- Ю. Ю. Дгебуадзе** – Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
- Н. А. Колчанов** – Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация
- В. В. Кузнецов** – Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
- В. Олех-Пясэцка** – Варшавский университет естественных наук, Варшава, Республика Польша
- О. Н. Пугачев** – Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация
- А. И. Рапопорт** – Институт микробиологии и биотехнологии Латвийского университета, Рига, Латвийская Республика
- И. А. Тихонович** – Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Российская Федерация
- В. В. Швартау** – Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев, Украина

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. 2020. Т. 65, № 1.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*

Компьютерная верстка *С. Н. Костюк*

Подписано в печать 21.01.2020. Выход в свет 29.01.2020. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 82 экз. Заказ 13.

Цена номера: индивидуальная подписка – 12,26 руб., ведомственная подписка – 29,23 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, 2020

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2020, vol. 65, 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

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

Valentina G. Kolosovskaya – *Managing Editor*

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

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

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

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

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

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

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

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

E d i t o r i a l C o u n c i l

Vladimir F. Baginski – F. Skorina Gomel State University, Gomel, Republic of Belarus
Arvids Barsevskis – Daugavpils University, Daugavpils, Republic of Lithuania
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, Russian Federation
Vasily E. Gayduk – A. S. Pushkin Brest State University, Brest, Republic of Belarus
Nikolay A. Kolchanov – Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation
Vladimir V. Kuznetsov – K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Wanda Olech-Piasecka – Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Republic of Poland
Oleg N. Pugachev – Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation
Alexander I. Rapoport – Institute of Microbiology and Biotechnology of University of Latvia, Riga, Latvian Republic
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, Russian Federation

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*

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.

Biological series, 2020, vol. 65, no. 1.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *S. N. Kostsyuk*

Sent for press 21.01.2020. Output 29.01.2020. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 82 copies. Order 13.
Number price: individual subscription – 12,26 byn., departmental subscription – 29,23 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, 2020

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

ЗМЕСТ

Аверина Н. Г., Козел Н. В., Щербаков Р. А., Радюк М. С., Мананкина Е. Е., Гончарик Р. Г., Шальго Н. В. Влияние этанола на продуктивность <i>Haematococcus pluvialis</i> , содержание фотосинтетических пигментов, активных форм кислорода и астаксантина	7
Байчоров В. М., Гигиняк Ю. Г., Мороз М. Д., Гигиняк И. Ю., Корзун Е. В. Изменение экологического качества воды рек Неман и Вилия при воздействии городских сточных вод	16
Вознячук И. П., Моложавский А. А., Судник А. В., Вознячук Н. Л. Основные тренды динамики лесных насаждений буферной зоны Новополоцкого нефтепромышленного комплекса (по результатам 25-летних исследований)	30
Довнар Д. В., Янковская Е. Н., Войтка Д. В., Баранов О. Ю., Каплич В. М., Кантерова А. В. Регистрация энтомопатогенного микромицета <i>Cordyceps</i> sp. в кровососущих мошках <i>Wilhelmia equina</i> (Linnaeus, 1758)	43
Домаш В. И., Белозерский М. А., Дунаевский Я. Е., Иванов О. А., Шарпио Т. П., Забрейко С. А., Шабашова Т. Г. Антифунгальный потенциал белков некоторых сельскохозяйственных растений	50
Рупасова Ж. А., Гаранович И. М., Шпитальная Т. В., Павловский Н. Б., Гончарова Л. В., Василевская Т. И., Криницкая Н. Б., Павловская А. Г., Пигуль М. Л., Фролова Л. В. Влияние метеорологических факторов на изменчивость биохимического состава плодов интродуцированных видов семейств Ericaceae и Actinidiaceae в условиях Беларуси	59
Ламан Н. А., Усик А. В. Локализация и состав кумаринов в корнях борщевика Сосновского (<i>Heracleum sosnowskyi</i> Manden.)	71
Юрченко И. С., Анисимова Е. И. Видовой состав гельминтов еотовидной собаки в условиях Полесского государственного радиационно-экологического заповедника	76
Бексултанова А. М., Мосолова С. Н. Патогенные микромицеты хозяйственно значимых групп растений бассейна реки Джумгал	82
Колбанова Е. В. Влияние фитогормонов в составе питательной среды на пролиферацию у растений-регенерантов сортов жимолости синей (<i>Lonicera caerulea</i> L. var. <i>kamtschatica</i>)	88
Головченко Л. А., Дишук Н. Г., Пантелеев С. В., Баранов О. Ю. Новый инвазивный вид <i>Mycosphaerella dearnessii</i> в составе микобиоты хвои сосны на территории Беларуси	98

АГЛЯДЫ

Волотовский И. Д., Ермоленко Д. А., Горохова Н. И. Эпигенетический контроль дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток. Дифференцировка стволовых клеток в печени	106
---	-----

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Игорь Дмитриевич Волотовский (К 80-летию со дня рождения)	119
Памяти члена-корреспондента Марии Тихоновны Чайка (К 90-летию со дня рождения)	124
Памяти Михаила Валентиновича Залашко (К 90-летию со дня рождения)	128

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

CONTENTS

Averina N. G., Kozel N. V., Shcherbakov R. A., Radyuk M. S., Manankina E. E., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Influence of ethanol on the productivity of <i>Haematococcus pluvialis</i> , content of photosynthetic pigments, reactive oxygen species and astaxantin	7
Baitchorov V. M., Giginyak Y. G., Moroz M. D., Giginyak I. J., Korzun E. V. Change in environmental water quality of Neman and Vilia rivers under the influence of city wastewater	16
Voznyachuk I. P., Malazhavski A. A., Sudnik A. V., Voznyachuk N. L. Main trends in the dynamics of forest plantations in the buffer zone of the Novopolotsk Refinery Complex (based on the results of a 25-year research)	30
Dovnar D. V., Yankovskaya E. N., Voitka D. V., Baranov O. Yu., Kaplich V. M., Kanterova H. V. Registration of entomopathogenic micromycete <i>Cordyceps</i> sp. in bloodsucking blackflies <i>Wilhelmia equina</i> (Linnaeus, 1758)	43
Domash V. I., Belozersky M. A., Dunaevsky Y. E., Ivanov O. A., Sharpio T. P., Zabreiko S. A., Shabashova T. G. Antifungal potential of some proteins agricultural plants	50
Rupasova Zh. A., Garanovich I. M., Shpitalnaya T. V., Pavlovskiy N. B., Goncharova L. V., Vasilevskaya T. I., Krinickaya N. B., Pavlovskaya A. G., Pigul M. L., Frolova L. V. Influence of meteorological factors on variability of biochemical composition of fruits of introduced species of Ericaceae and Actinidiaceae families in conditions of Belarus	59
Laman N. A., Usik A. W. Localization and composition of coumarins in roots of <i>Heracleum sosnowskyi</i> Manden.	71
Yurchenko I. S., Anisimova E. I. Special composition of helminths of the raccoon dog in the Polesie Radioecological Reserve	76
Beksultanova A. M., Mosolova S. N. Pathogenic micromycetes of the Jungal River basin by groups of economically useful plants.	82
Kolbanova E. V. Influence of fitohormones in the nutrient medium on the proliferation at the microplants of blue honeysuckle cultivars (<i>Lonicera caerulea</i> L. var. <i>kamtschatica</i>)	88
Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Panteleev S. V., Baranov O. Yu. New invasive specie of <i>Mycosphaerella dearnessii</i> in the composition of mycobiota of pine needles in the territory of Belarus	98

REVIEWS

Volotovskii I. D., Ermolenko D. A., Harokhava N. I. Epigenetic control of differentiation of mesenchymal stem cells. Stem cells differentiation in liver	106
---	-----

SCIENTISTS OF BELARUS

Igor Dmitrievich Volotovskii (To the 80th Anniversary)	119
In the memory of Maria Tikhonovna Chaika (To the 90th Anniversary)	124
In the memory of Mikhail Valentinovich Zalashko (To the 90th Anniversary)	128

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.1
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-7-15>

Поступила в редакцию 05.09.2019
Received 05.09.2019

**Н. Г. Аверина, Н. В. Козел, Р. А. Щербаков, М. С. Радюк, Е. Е. Мананкина,
Р. Г. Гончарик, Н. В. Шальго**

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

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*, СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ, АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АСТАКСАНТИНА

Аннотация. Изучено влияние этанола (0,1; 0,3 и 1,6 %) на содержание фотосинтетических пигментов, астаксантина и активных форм кислорода (АФК) в *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*, штамм IBCE H-17), а также на продуктивность водоросли по показателю сухой биомассы. Установлено, что в изученных концентрациях этанол стимулировал накопление сухой биомассы в течение 3, 7 и 12 сут выращивания в среднем в 2 раза. При всех используемых концентрациях этанола количество клеток увеличивалось. Так, при использовании 0,3 % этанола количество клеток гематококка возросло в 2,1; 2,5 и в 3,3 раза по сравнению с их уровнем в контрольной культуре на 3-и, 7-е и 15-е сутки выращивания. При этом отмечена тенденция к уменьшению их размеров. Этанол стимулировал также накопление фотосинтетических пигментов. Так, через 3 сут инкубации в растворе, содержащем 0,1 и 0,3 % этанола, содержание хлорофилла (Хл) *a* составило 142 и 130 % от контроля, Хл *b* – 126 и 115, лютеина – 151 и 132 % соответственно. Максимальный эффект отмечен для β -каротина – 177 и 157 % по сравнению с контролем. Стрессовые условия, создаваемые этанолом, привели к генерации АФК. В частности, через 7 сут инкубации при использовании 0,1; 0,3 и 1,6 % этанола количество АФК составило 114, 141 и 179 % от контроля, а через 12 сут инкубации – 130, 165 и 183 % соответственно. Отмечено существенное положительное влияние этанола на содержание астаксантина. Так, через 7 сут инкубации содержание астаксантина при использовании 0,1; 0,3 и 1,6 % этанола возросло в 3,6; 4,9 и 4,6 раза соответственно, а через 12 сут – в 8,6; 6,6 и 7,7 раза по сравнению с контролем. Результаты указывают на огромный потенциал использования этанола как в качестве эффективного индуктора накопления астаксантина в клетках гематококка, так и в качестве активного стимулятора продуктивности водоросли.

Ключевые слова: *Haematococcus pluvialis*, сухой вес, количество и размер клеток, фотосинтетические пигменты, активные формы кислорода, астаксантин, этанол

Для цитирования: Влияние этанола на продуктивность *Haematococcus pluvialis*, содержание фотосинтетических пигментов, активных форм кислорода и астаксантина / Н. Г. Аверина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 7–15. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-7-15>

**Nataliya G. Averina, Nikolai V. Kozel, Rostislav A. Shcherbakov, Mechislav S. Radyuk,
Elena E. Manankina, Ruslan G. Goncharik, Nikolai V. Shalygo**

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

INFLUENCE OF ETHANOL ON THE PRODUCTIVITY OF *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*, CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS, REACTIVE OXYGEN SPECIES AND ASTAXANTIN

Abstract. The effect of ethanol (0.1, 0.3, and 1.6 %) on the content of photosynthetic pigments, astaxanthin, and reactive oxygen species (ROS) in *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*, strain IBCE H-17), as well as on algae productivity, was studied in terms of dry biomass. Ethanol was found to stimulate in the studied concentrations the accumulation of dry biomass for 3, 7, and 12 days of cultivation on average 2 times. At all used ethanol concentrations, the number of cells increased. So, when using 0.3 % ethanol, the number of cells increased by 2.1; 2.5 and 3.3 times compared with the control culture on days 3, 7 and 15 of haematococcus cell growth. At the same time, a tendency toward a decrease in their size was noted. Ethanol also stimulated the accumulation of photosynthetic pigments. So, after 3 days of incubation in a solution containing 0.1 and 0.3 % ethanol, the content of chlorophyll (Chl) *a* was 142 and 130 % of that in the control, respectively, Chl *b* – 126 and 115 %, lutein – 151 and 132 %. The maximum effect was noted for β -carotene – 177 and 157 % compared with the control. The stress conditions created by ethanol led to the generation of ROS, in particular, after 7 days of incubation using 0.1; 0.3 and 1.6 % ethanol, the amount of ROS was 114, 141 and 179 % of that in the control, and after 12 days of incubation, 130, 165 and 183 %, respectively. A significant positive effect of ethanol on the content of astaxanthin was noted. So, after 7 days of incubation, the content of astaxanthin in options of 0.1; 0.3 and 1.6 % increased by 3.6; 4.9 and 4.6 times, respectively, and after 12 days – 8.6; 6.6 and 7.7 times compared with the control. The results indicate the enormous potential of using

ethanol as an effective inducer of astaxanthin accumulation in haematococcus cells, as well as an active stimulator of algal productivity.

Keywords: *Haematococcus pluvialis*, dry weight, number and size of cells, photosynthetic pigments, reactive oxygen species, astaxanthin, ethanol

For citation: Averina N. G., Kozel N. V., Shcherbakov R. A., Radyuk M. S., Manankina E. E., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Influence of ethanol on the productivity of *Haematococcus pluvialis*, content of photosynthetic pigments, reactive oxygen species and astaxanthin. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 7–15 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-7-15>

Введение. Астаксантин – красный пигмент, широко используемый в сельском хозяйстве, пищевой, фармакологической промышленности, а также в косметологии благодаря его чрезвычайно высокой антиоксидантной активности, которая в определенных условиях значительно превышает таковую β -каротина и витамина Е [1, 2]. В клетках *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) содержание астаксантина составляет от 2 до 5 % от сухой массы водоросли [3, 4]. Химически синтезированный искусственный астаксантин, представляющий смесь из трех стереоизомеров, отличается от натурального структурно и обладает гораздо меньшей биоактивностью, чем натуральный пигмент [5–7]. В последние годы интерес к *H. pluvialis* значительно возрос, что связано с его промышленным производством, а также с поиском способов увеличения общей продуктивности и выхода астаксантина. Использование света высокой интенсивности, добавление в культуральную среду NaCl, а также истощение азота, железа или фосфата в среде выращивания ряда водорослей индуцирует в клетках *Scenedesmus*, *Chlorella* и *H. pluvialis* накопление астаксантина [8–15]. В единичной публикации [16] отмечено, что выращивание клеток водоросли *H. pluvialis* в среде, содержащей 3 % этанола, приводило к увеличению продукции астаксантина в 2 раза по сравнению с таковой в контрольной культуре. Штамм ИВСЕ Н-17 *H. pluvialis* из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси не был изучен на предмет индукции накопления астаксантина в условиях избыточного содержания этанола в среде выращивания.

Цель данной работы – изучение возможности применения низких концентраций этанола (0,1; 0,3 и 1,6 %) при выращивании водоросли *H. pluvialis* (штамм ИВСЕ Н-17) с целью повышения выхода астаксантина, оценка продуктивности гематококка по показателям сухого веса, количеству и размеру клеток, содержанию фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов), а также анализ общего уровня активных форм кислорода.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований служила альгологически чистая культура одноклеточной зеленой жгутиковой водоросли *H. pluvialis*, штамм ИВСЕ Н-17, из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси [17]. Клетки гематококка (эллипсоидной или удлинённо-яйцевидной формы, с гладкой оболочкой и двумя жгутиками) стерильно пересевали на чашки Петри с агаризованной питательной средой ВВМ, подращивали на свету в течение 5–7 сут при температуре 23 ± 2 °С, после чего смывали с чашек Петри стерильной средой Рудика и выращивали в накопительном режиме при освещении светом люминесцентных ламп Philips TD-36/765, освещенности 20 мкмоль фотонов на $1 \text{ м}^2/\text{с}$ и режиме 14 ч света – 10 ч темноты при температуре в световом периоде 23 ± 2 °С, как описано в работе [18]. Через 4 сут выращивания суспензию гематококка, находящуюся на стадии активного роста и содержащую около 80 % подвижных клеток, использовали в экспериментах. На этой стадии в суспензию водорослей с оптической плотностью (ОП) 0,3–0,4 при 560 нм добавляли этанол, таким образом, чтобы его конечная концентрация в суспензии составляла 0 (контроль); 0,1; 0,3 и 1,6 %. В этих условиях водоросль культивировали в течение 12 сут, периодически подвывая анализу.

Количество клеток в культуре водоросли оценивали при помощи камеры Горяева и построения калибровочной кривой, как это описано в работе [18]. Диаметр клеток гематококка определяли, проведя предварительную калибровку, с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 с камерой Nikon DS-Fi2, используя программное обеспечение NIS-Elements Advanced Solutions v. 4.40 (Nikon, Япония).

Продуктивность *H. pluvialis* определяли по изменению сухой биомассы, которую оценивали по поглощению и светорассеянию суспензий водоросли в красной и инфракрасной областях спектра при 680 и 750 нм на спектрофотометре Solar PB-2201 (Беларусь). Поглощение при 680 нм соответствует максимуму поглощения хлорофилла (Хл), а поглощение при 750 нм определяется в основном светорассеянием на клетках гематококка. Для количественного расчета сухой биомассы *H. pluvialis* использовали формулу, описанную Tomohisa Katsuda с соавт. в работе [15].

Качественный и количественный состав фотосинтетических пигментов в клетках водоросли оценивали с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), содержание Хл и каротиноидов в образцах – с помощью хроматографа высокого давления Shimadzu Prominence LC 20 (Япония) с хроматографической колонкой Nucleodur C18 Gravity (тип C18, размер частиц 3 мкм, длина 15 см) фирмы Macherey-Nagel (Германия). Экстракцию, разделение и идентификацию пигментов осуществляли, как это описано в работе [18]. Содержание Хл *a*, Хл *b* и каротиноидов оценивали в мкг/г сухой массы либо на 1 л суспензии.

Для определения содержания АФК промытую и осажденную путем центрифугирования (центрифуга Sigma 1-15К) сырую биомассу *H. pluvialis* (100 мг) растирали в жидком азоте и экстрагировали 1 мл 10 мМ трис-НСl, рН 7,2, затем центрифугировали 20 мин при 12 000 g на холоде. К 100 мкл супернатанта добавляли 900 мкл 10 мМ трис-НСl, рН 7,2, и 10 мкл 1 мМ раствора ди-ацетата дихлорфлуоресцеина в диметилсульфоксиде. Пробы инкубировали в темноте в течение 10 мин, после чего регистрировали интенсивность флуоресценции при 524 нм и возбуждающем свете 496 нм на спектрофлуориметре Solar RB (Беларусь). По калибровочной кривой определяли содержание АФК в образцах, как описано в работе [19].

Количество астаксантина в клетках гематококка определяли методом ВЭЖХ с помощью хроматографа высокого давления Shimadzu Prominence LC 20 (Япония). Для этого клетки гематококка осаждали на центрифуге при 12 000 g 10 мин. Осадок ресуспендировали в 4 нНСl, нагревали суспензию при 70 °С в течение 5 мин, после чего ее центрифугировали при той же скорости и дважды промывали осадок 2 мл дистиллированной воды. После каждой промывки суспензию центрифугировали при 12 000 g в течение 10 мин. Промытый осадок ресуспендировали в 0,5 мл метанола, экстрагировали пигменты при встряхивании 30 мин на шейкере и центрифугировали при 12 000 g в течение 10 мин. Процедуру экстрагирования пигментов в 0,5 мл метанола повторяли еще раз. К 1,0 мл суммарного экстракта добавляли 20 мкл 1 М КОН и оставляли в темноте на 6 ч при комнатной температуре. Полученный экстракт использовали для хроматографии. Перед хроматографией супернатант еще раз центрифугировали в течение 10 мин при 12 000 g. Далее в вials для хроматографии вносили по 0,5 мл супернатанта (объем инъекции – 20 мкл) и помещали их в камеру хроматографа. Разделение пигментов в колонке производили со скоростью 0,5 мл/мин с использованием растворов А (90 % ацетонитрила, 9,9 % дистиллированной воды и 0,1 % триэтиламина) и В (100 % этилацетата). Пигменты регистрировали с помощью детектора с диодной матрицей по спектрам поглощения в диапазоне 200–800 нм. Для визуализации профиля хроматограммы выделяли спектр поглощения при 475 нм. Площади пиков хроматограммы использовали для количественного определения пигментов [7, 20].

В ходе обработки экспериментальных данных вычисляли среднее, стандартное отклонение среднего, достоверность различий между вариантами определяли с учетом коэффициента Стьюдента для принятого уровня значимости ($p \leq 0,05$) и данного числа степеней свободы. Представлены результаты 6 опытов, проведенных в двукратной биологической повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакеты программ Excel 2010, SigmaPlot 12.0 и статистические методы, принятые в области биологических исследований [21].

Результаты и их обсуждение. В качестве индуктора накопления астаксантина и других фотосинтетических пигментов использовали этанол. Наиболее оптимальными его концентрациями оказались 0,1; 0,3 и 1,6 %. Более высокая концентрация этанола (3,2 %) в среде выращивания уже на 3-и сутки вызывала появление белых хлопьев, а при использовании концентрации 11,7 % клетки водоросли полностью разрушались.

Оптическая плотность суспензии водоросли при 680 нм, позволяющая ориентировочно оценивать содержание хлорофилловых пигментов в культуре, значительно увеличивалась на 3-и, 7-е и 12-е сутки

инкубации по сравнению с контролем (табл. 1). Визуально суспензии опытных образцов также окрашивались в более зеленый цвет, чем в контрольной культуре, что позволяло количественно оценить содержание хлорофилла по спектрам поглощения экстрактов клеток (рис. 1). Так, через 3 сут инкубации в растворе, содержащем 0,1 и 0,3 % этанола, содержание Хл *a* составило 142 и 130 % от контроля, Хл *b* – 126 и 115, лютеина – 151 и 132 % соответственно. Максимальный эффект отмечен для β -каротина – 177 и 157 % по сравнению с контролем (рис. 1). В одном из опытов содержание β -каротина на 3-и сутки выращивания составило 203 и 199 % от контроля.

Значительно (практически в 2 раза) возросло количество клеток при всех используемых концентрациях этанола (табл. 2). При этом отмечалась тенденция к уменьшению их диаметра (рис. 2). Так, на 12-е сутки инкубации культуры клеток в присутствии 0,1; 0,3 и 1,6 % этанола диаметр клеток в среднем составил 87, 90 и 92 % от контроля соответственно. По мере продолжения выращивания культуры клеток эта тенденция усиливалась.

Таблица 1. Влияние этанола на оптическую плотность при 680 нм (OP_{680}) и сухой вес водоросли *H. pluvialis*, выращиваемой в течение 7–12 сут

Table 1. Effect of ethanol on optical density at 680 nm (OD_{680}) and dry weight of *H. pluvialis* algae grown for 7–12 days

Время инкубации	Вариант опыта	OP_{680} (исходная – 0,432)	Сухой вес, мг/мл (исходный – 0,344)
3 сут	Контроль	0,511	0,442
	Этанол 0,1 %	1,153	0,982
	Этанол 0,3 %	1,094	0,928
	Этанол 1,6 %	0,937	0,863
7 сут	Контроль	0,532	0,516
	Этанол 0,1 %	1,062	1,020
	Этанол 0,3 %	1,492	1,224
	Этанол 1,6 %	1,390	1,171
12 сут	Контроль	0,587	0,670
	Этанол 0,1 %	0,720	1,365
	Этанол 0,3 %	1,367	1,527
	Этанол 1,6 %	1,362	1,057

Примечание. Показатели в контроле приняты за 100 %. Представлены средние значения по результатам 4 опытов. То же в табл. 2.

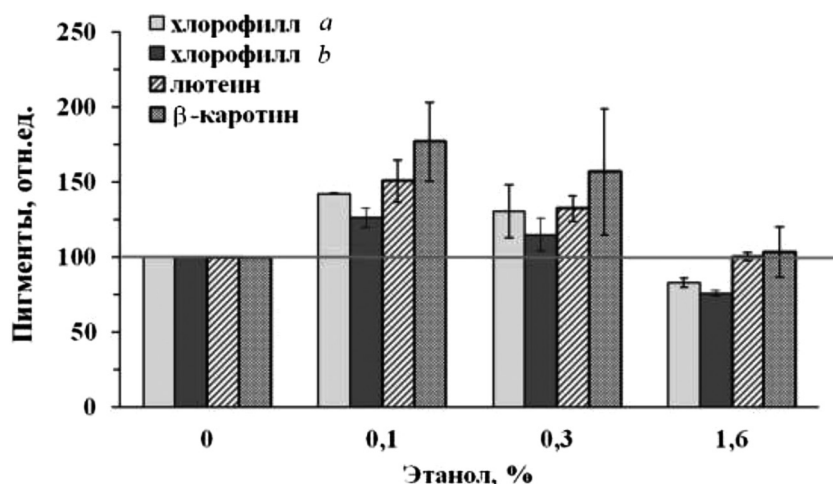
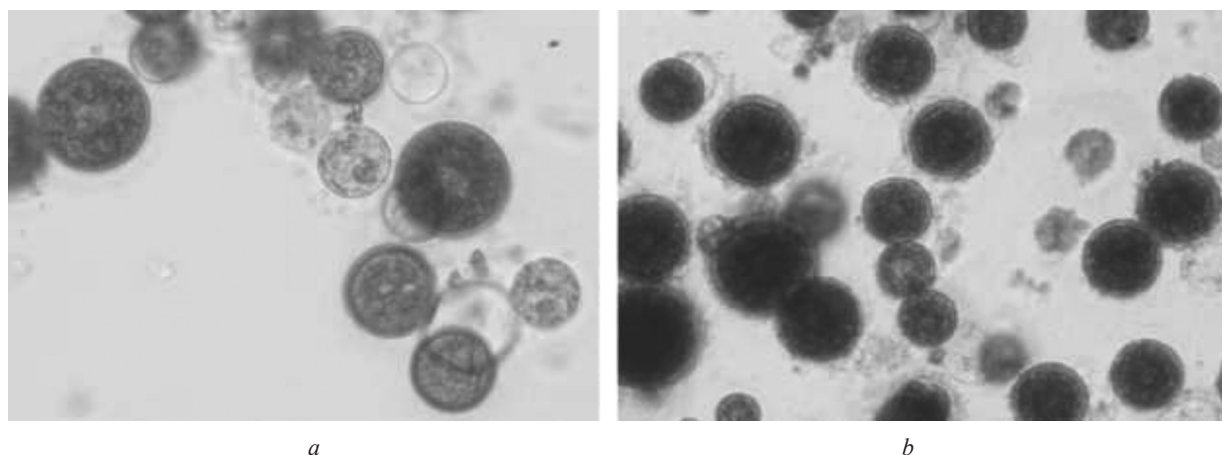


Рис. 1. Содержание Хл *a* и Хл *b*, каротиноидов в клетках водоросли *H. pluvialis* в контрольной и опытной культурах, выращиваемых в течение 3 сут на среде Рудика с добавлением этанола с конечной концентрацией в суспензии 0,1; 0,3 и 1,6 %. Линия на рисунке показывает содержание пигментов в контрольной культуре

Fig. 1. The content of chlorophylls *a* and *b*, carotenoids in *H. pluvialis* alga cells of the control and experimental cultures grown for 3 days on Rudik medium with the addition of ethanol with a final concentration in suspension 0.1; 0.3 and 1.6 %. The line in the figure shows the content of pigments in the control culture

Т а б л и ц а 2. Влияние этанола на диаметр и количество клеток водоросли *H. pluvialis*, выращиваемой в течение 7–15 сутТ а б л и ц а 2. Effect of ethanol on the diameter and number of cells of the *H. pluvialis* alga grown for 7–15 days

Время инкубации	Вариант опыта	К-во клеток		Диаметр клеток	
		тыс. кл/мл	%	мкм	%
7 сут	Контроль	160	100	19,76	100
	Этанол 0,1 %	320	200	18,97	96
	Этанол 0,3 %	342	214	19,87	100
	Этанол 1,6 %	352	220	21,20	107
12 сут	Контроль	182	100	23,61	100
	Этанол 0,1 %	346	190	20,51	87
	Этанол 0,3 %	454	249	21,28	90
	Этанол 1,6 %	289	159	21,75	92
15 сут	Контроль	106	100	27,18	100
	Этанол 0,1 %	–	–	–	–
	Этанол 0,3 %	353	333	17,93	66
	Этанол 1,6 %	120	113	19,56	72

Рис. 2. Клетки водоросли *H. pluvialis* в контрольной (а) и опытной (b, этанол 0,3 %) культурах, выращиваемых в течение 12 сут на среде РудикаFig. 2. Cells of *H. pluvialis* alga in control (a) and experimental (b, ethanol 0.3 %) cultures grown for 12 days in Rudik medium

В соответствии с возрастанием числа клеток значительно повысилась и продуктивность культуры при оценке сухого веса. Так, при всех используемых концентрациях этанола сухой вес увеличился в среднем в 2 раза. В табл. 1 представлена динамика изменения сухой биомассы гематококка в контрольной культуре и в условиях выращивания водоросли в суспензии с добавлением этанола.

В клетках гематококка возросло и общее содержание активных форм кислорода (АФК). Через 7 сут инкубации при использовании 0,1; 0,3 и 1,6 % этанола количество АФК составило 114, 141 и 179 % от контроля, а через 12 сут инкубации – 130, 165 и 183 % соответственно, что свидетельствует об индуцированном этанолом стрессе. На рис. 3 представлены результаты индивидуального опыта, демонстрирующего повышенное содержание АФК при добавлении разных концентраций этанола.

В соответствии с повышенным содержанием АФК возросло и содержание астаксантина (клетки приобрели коричневую окраску) (рис. 2). Через 7 сут инкубации содержание астаксантина при добавлении 0,1; 0,3 и 1,6 % этанола возросло в 3,6; 4,9 и 4,6 раза соответственно, а через 12 сут – в 8,6; 6,6 и 7,7 раза по сравнению с контролем (рис. 4).

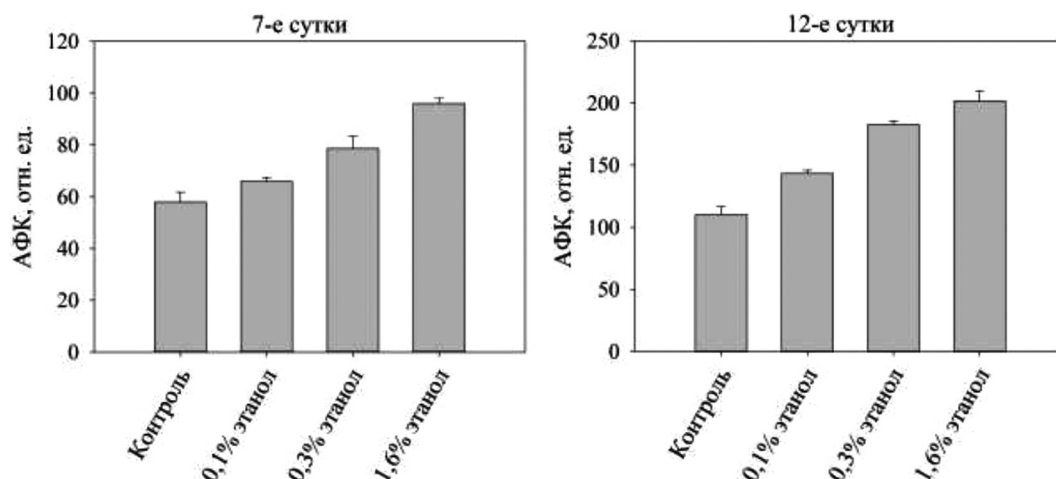


Рис. 3. Содержание АФК в клетках водоросли *H. pluvialis* в контрольной и опытной культурах, выращиваемых в течение 7 и 12 сут на среде Рудика с добавлением этанола (0,1; 0,3 и 1,6 %)

Fig. 3. Reactive oxygen species (ROS) content in *H. pluvialis* alga cells of the control and experimental cultures grown for 7 and 12 days in Rudik medium with ethanol (0.1; 0.3 and 1.6 %)

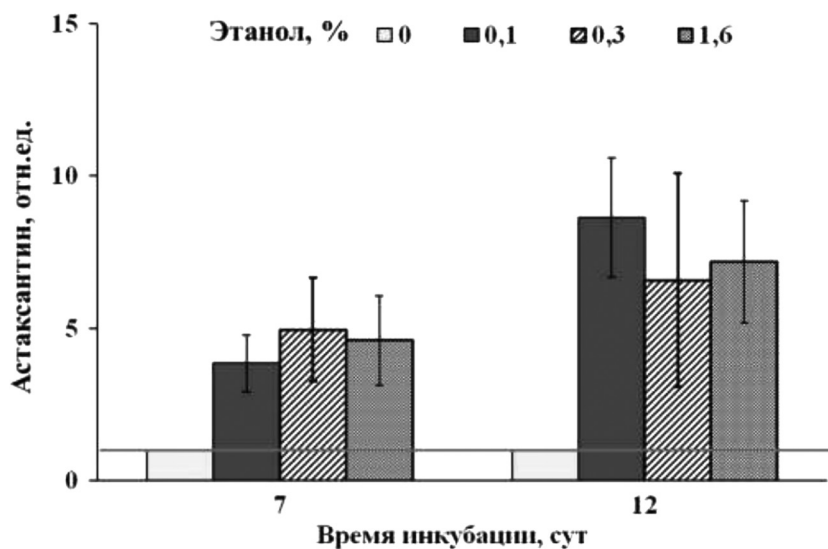


Рис. 4. Содержание астаксантина в клетках водоросли *H. pluvialis* в контрольной и опытных культурах, выращиваемых в течение 7 и 12 сут на среде Рудика с добавлением этанола (0,1; 0,3 и 1,6 %). Линия на рисунке показывает содержание пигментов в контрольной культуре

Fig. 4. Astaxanthin content in the *H. pluvialis* algae cells of the control and experimental cultures grown for 7 and 12 days in Rudik medium with the addition of ethanol (0.1; 0.3 and 1.6 %). The line in the figure shows the content of pigments in the control culture

Заклучение. Таким образом, выращивание культуры клеток водоросли гематококка в присутствии 0,1; 0,3 и 1,6 % этанола стимулировало деление клеток и накопление сухой биомассы, повышало в клетках содержание фотосинтетических пигментов – Хл *a*, Хл *b* и каротиноидов в течение 3–15 сут выращивания. При этом возрастание внутриклеточного уровня АФК свидетельствовало о повышении окислительного потенциала и приводило к увеличению содержания накопленного астаксантина. В работе Z. Wen с соавт. [16] отмечено, что при выращивании культуры клеток *H. pluvialis* в присутствии 3 % этанола содержание астаксантина возрастало в 2 раза по сравнению с контролем и достигало 11,26 мг/л суспензии. Авторы отметили повышение экспрессии гена изопентенилдифосфат (IPP)-изомеразы (*ipi*) – фермента, катализирующего образование диметилаллилдифосфата (DMAPP) из IPP. Последующая конденсация этих двух веществ приводит к образованию C₁₀-соединения – геранилдифосфата, являющегося источником всех изопренои-

дов (терпеноидов), в том числе и каротиноидов. Таким образом, предполагается, что одним из механизмов действия этанола является активация первичных реакций ацетатно-мелавонатного пути биосинтеза изопреноидов, ведущего к образованию астаксантина. В целом полученные результаты указывают на то, что этанол имеет огромный потенциал для использования как в качестве эффективного индуктора накопления астаксантина в клетках гематококка, так и в качестве активного стимулятора продуктивности водоросли.

Список использованных источников

1. Shimidzu, N. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms / N. Shimidzu, M. Goto, W. Miki // *Fisheries Science*. – 1996. – Vol. 62, N 1. – P. 134–137. <https://doi.org/10.2331/fishsci.62.134>
2. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition / G. Hussein [et al.] // *J. Nat. Products*. – 2006. – Vol. 69, N 3. – P. 443–449. <https://doi.org/10.1021/np050354>
3. Johnson, E. A. Microbial carotenoids / E. A. Johnson, W. A. Schroeder // *Downstream Processing Biosurfactants Carotenoids* / ed. A. Fiechter. – Berlin, 1995. – P. 119–178.
4. Krishna, K. B. Secondary carotenoid production in green algae / K. B. Krishna, P. Mohanty // *J. Sci. Industr. Res.* – 1998. – Vol. 57. – P. 51–63.
5. Guerin, M. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition / M. Guerin, M. E. Huntley, M. Olazola // *Trends Biotechnol.* – 2003. – Vol. 21, N 5. – P. 210–216. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00078-7](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00078-7)
6. Higuera-Ciajara, I. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications / I. Higuera-Ciajara, L. Félix-Valenzuela, F. Goycoolea // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2006. – Vol. 46, N 2. – P. 185–196. <https://doi.org/10.1080/10408690590957188>
7. Yuan, J.-P. Identification of astaxanthin isomers in *Haematococcus lacustris* by HPLC-photodiode array detection / J.-P. Yuan, F. Chen // *Biotechnol. Techniques*. – 1997. – Vol. 11, N 7. – P. 455–459. <https://doi.org/10.1023/A:1018441411746>
8. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Nevada, USA) under laboratory conditions / A. Cifuentes [et al.] // *Biol. Res.* – 2003. – Vol. 36, N 3–4. – P. 343–357. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602003000300006>
9. Aburai, N. Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) / N. Aburai, D. Sumida, K. Abe // *Algal Res.* – 2015. – Vol. 8. – P. 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.005>
10. High-light and sodium chloride stress differentially regulate the biosynthesis of astaxanthin in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyceae) / Y. Li [et al.] // *J. Phycol.* – 2009. – Vol. 45, N 3. – P. 635–641. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00689.x>
11. He, P. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*: effects of cultivation parameters / P. He, J. Duncan, J. Barber // *J. Integr. Plant Biol.* – 2007. – Vol. 49, N 4. – P. 447–451. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00468.x>
12. Study on the effect of salt concentration on growth and astaxanthin accumulation of microalga *Haematococcus pluvialis* as the initial basis for two phase culture of astaxanthin production / L.T. Tam [et al.] // *Tap Chi Sinh Hoc.* – 2012. – Vol. 34, N 2. – P. 964. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v34n2.964>
13. Kobayashi, M. Light-independent, astaxanthin production by the green microalga *Haematococcus pluvialis* under salt stress / M. Kobayashi, Y. Kurimura, Y. Tsuji // *Biotechnol. Lett.* – 1997. – Vol. 19, N 6. – P. 507–509.
14. Astaxanthin production from the green alga *Haematococcus pluvialis* with different stress conditions / B. Cordero [et al.] // *Biotechnol. Lett.* – 1996. – Vol. 18, N 2. – P. 213–218. <https://doi.org/10.1007/BF00128682>
15. Effect of flashing light emitting diodes on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* / T. Katsuda [et al.] // *J. Biosci. Bioeng.* – 2006. – Vol. 102, N 5. – P. 442–446. <https://doi.org/10.1263/jbb.102.442>
16. Ethanol induced astaxanthin accumulation and transcriptional expression of carotenogenic genes in *Haematococcus pluvialis* / Z. Wen [et al.] // *Enzyme Microb. Technol.* – 2015. – Vol. 78. – P. 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.06.010>
17. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей / С. С. Мельников [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 101 с.
18. Влияние 5-аминолевулиновой кислоты на продуктивность и пигментный состав водоросли *Haematococcus pluvialis* / Н. Г. Аверина [и др.] // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2017. – № 4. – С. 21–32.
19. Jambunathan, N. Determination and detection of reactive oxygen Species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants / N. Jambunathan // *Plant stress tolerance. Methods and protocols* / ed. R. Sunkar. – London ; N. Y., 2010. – P. 291–297.
20. Yuan, J.-P. Hydrolysis kinetics of astaxanthin esters and stability of astaxanthin of *Haematococcus pluvialis* during saponification / J.-P. Yuan, F. Chen // *J. Agric. Food Chem.* – 1999. – Vol. 47, N 1. – P. 31–35. <https://doi.org/10.1021/jf980465x>
21. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – 3-е изд., испр. – Минск : Вышэйш. шк., 1973. – 318 с.

References

1. Shimidzu N., Goto M., Miki W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fisheries Science*, 1996, vol. 62, no. 1, pp. 134–137. <https://doi.org/10.2331/fishsci.62.134>
2. Hussein G., Sankava U., Goto H., Matsumoto K., Watanabe H. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of Natural Products*, 2006, vol. 69, no. 3, pp. 443–449. <https://doi.org/10.1021/np050354>

3. Johnson E. A., Schroeder W. A. Microbial carotenoids. *Downstream Processing Biosurfactants Carotenoids*. Berlin, Springer, 1995, pp. 119–178.
4. Krishna K. B., Mohanty P. Secondary carotenoid production in green algae. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 1998, vol. 57, pp. 51–63.
5. Guerin M., Huntley M. E., Olaizola M. Review. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnology*, 2003, vol. 21, no. 5, pp. 210–216. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00078-7](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00078-7)
6. Higuera-Ciajara I., Félix-Valenzuela L., Goycoolea F. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2006, vol. 46, no. 2, pp. 185–196. <https://doi.org/10.1080/10408690590957188>
7. Yuan J.-P., Chen F. Identification of astaxanthin isomers in *Haematococcus lacustris* by HPLC-photodiode array detection. *Biotechnology Techniques*, 1997, vol. 11, no. 7, pp. 455–459. <https://doi.org/10.1023/A:1018441411746>
8. Cifuentes A., González M., Vargas S., Hoeneisen M., González N. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Nevada, USA) under laboratory conditions. *Biological Research*, 2003, vol. 36, no. 3–4, pp. 343–357. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602003000300006>
9. Aburai N., Sumida D., Abe K. Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae). *Algal Research*, 2015, vol. 8, pp. 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.005>
10. Li Y., Huang J., Sandmann G., Chen F. High-light and sodium chloride stress differentially regulate the biosynthesis of astaxanthin in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 2009, vol. 45, no. 3, pp. 635–641. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00689.x>
11. He P., Duncan J., Barber J. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis*: effects of cultivation parameters. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, vol. 49, no. 4, pp. 447–451. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00468.x>
12. Tam L. T., Hoang D. D., Mai D. T. N., Thu N. T. H., Anh H. T. L., Hong D. D. Study on the effect of salt concentration on growth and astaxanthin accumulation of microalga *Haematococcus pluvialis* as the initial basis for two phase culture of astaxanthin production. *Tap Chi Sinh Hoc*, 2012, vol. 34, no. 2, p. 964. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v34n2.964>
13. Kobayashi M., Kurimura Y., Tsuji Y. Light-independent, astaxanthin production by the green microalga *Haematococcus pluvialis* under salt stress. *Biotechnology Letters*, 1997, vol. 19, no. 6, pp. 507–509.
14. Cordero B., Otero A., Patiño M., Arredondo B. O., Fabregas J. Astaxanthin production from the green alga *Haematococcus pluvialis* with different stress conditions. *Biotechnology Letters*, 1996, vol. 18, no. 2, pp. 213–218. <https://doi.org/10.1007/BF00128682>
15. Katsuda T., Shimahara K., Shiraiishi H., Yamagami K., Ranjbar R., Katoh S. Effect of flashing light emitting diodes on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Bioscience Bioengineering*, 2006, vol. 102, no. 5, pp. 442–446. <https://doi.org/10.1263/jbb.102.442>
16. Wen Z., Liu Z., Hou Y., Liu C., Gao F., Zheng Y., Chen F. Ethanol induced astaxanthin accumulation and transcriptional expression of carotenogenic genes in *Haematococcus pluvialis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2015, vol. 78, pp. 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.06.010>
17. Mel'nikov S. S., Manankina E. E., Budakova E. A., Shalygo N. V. *Catalog of the genetic fund of economically useful species of algae*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 101 p. (in Russian).
18. Averina N. G., Kozel N. V., Shcherbakov R. A., Radyuk M. S., Manankina E. E., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Influence of 5-aminolevulinic acid on the production and pigment composition of algae *Haematococcus pluvialis*. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 4, pp. 21–32 (in Russian).
19. Jambunathan N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants. *Plant stress tolerance. Methods and protocols*. London, New York, 2010, pp. 291–297.
20. Yuan J.-P., Chen F. Hydrolysis kinetics of astaxanthin esters and stability of astaxanthin of *Haematococcus pluvialis* during saponification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, vol. 47, no. 1, pp. 31–35. <https://doi.org/10.1021/jf980465x>
21. Rokitskii P. F. *Biological statistics. 3rd ed.* Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973, pp. 28–50 (in Russian).

Информация об авторах

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

Козел Николай Владимирович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kozel.mikalai@gmail.com

Шербakov Ростислав Александрович – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sherbakov@ibp.org.by

Information about the authors

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

Nikolai V. Kozel – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kozel.mikalai@gmail.com

Rostislav A. Shcherbakov – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sherbakov@ibp.org.by

Радюк Мечислав Степанович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: radmes@mail.ru

Мананкина Елена Евгеньевна – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: room454@mail.ru

Гончарик Руслан Геннадьевич – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rusgon@mail.ru

Шалыго Николай Владимирович – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shalygo@ibp.org.by

Mechislav S. Radyuk – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: radmes@mail.ru

Elena E. Manankina – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: room454@mail.ru

Ruslan G. Goncharik – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rusgon@mail.ru

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Assistant Professor. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shalygo@ibp.org.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 591.9(28):504.064.47:(282.247.28)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-16-29>

Поступила в редакцию 08.10.2019

Received 08.10.2019

В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк, М. Д. Мороз, И. Ю. Гигиняк, Е. В. Корзун

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

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕК НЕМАН И ВИЛИЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГОРОДСКИХ СТОЧНЫХ ВОД

Аннотация. В определении качества поверхностных вод все большее значение приобретает анализ биотической составляющей. Целью работы являлась оценка влияния сброса сточных вод городов Гродно, Столбцы и Вилейка на экологическое качество воды речных экосистем Немана и Вилии на основе изучения сообщества макрозообентоса.

В реках Неман и Вилия обитают редкие и охраняемые в ряде стран Европы виды гидробионтов. Среди них моллюски, жесткокрылые, ручейники, ракообразные. В р. Неман отсутствует самая приоритетная индикаторная группа гидробионтов – веснянки. Слабо представлены поденки и ручейники (2-я и 3-я индикаторные группы). В р. Вилия присутствуют все три основные индикаторные группы гидробионтов. Определены биотические индексы и рассчитаны классы чистоты воды обеих рек. В соответствии с Водной рамочной директивой ЕС вода на изученных станциях имеет хороший и высокий класс чистоты. Сделан вывод, что негативное воздействие сточных вод городов Гродно, Столбцы и Вилейка имеет весьма локальное значение и слабо сказывается на биоте и экологическом качестве воды рек Неман и Вилия.

Ключевые слова: поверхностные воды, речные экосистемы, биотические индексы, макрозообентос, горячие точки, экологическое качество

Для цитирования: Изменение экологического качества воды рек Неман и Вилия при воздействии городских сточных вод / В. М. Байчоров [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 16–29. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-16-29>

Vladimir M. Baitchorov, Yuri G. Giginyak, Michael D. Moroz, Irina J. Giginyak, Egor V. Korzun

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

CHANGE IN ENVIRONMENTAL WATER QUALITY OF NEMAN AND VILIYA RIVERS UNDER THE INFLUENCE OF CITY WASTEWATER

Abstract. The analysis of the biotic component in determining of the quality of surface water is becoming increasingly important. The aim of the work was to assess the ecological quality of the river ecosystems from the influence of wastewater discharges of the Grodno, Stolbtsy and Vileyka cities on the Neman and Viliya rivers based on the macrozoobenthos community.

The rare and protected species of hydrobionts from number of European countries live in the studied rivers. Among them are mollusks, coleoptera, caddis flies, and crustaceans. The stoneflies – highest priority indicator group of hydrobionts is missing in the Neman river. Mayflies and caddis flies are also poorly represented (2nd and 3rd indicator groups). The all three main indicator groups of aquatic organisms are presented in the Viliya river. The biotic indices are determined and the class of water purity of the studied rivers was calculated. In accordance with the EU Water Framework Directive, the cleanliness class has good and high value. It is concluded that the negative impact of wastewater from the cities of Grodno, Stolbtsy and Vileyka is of very local importance and weakly affects the biota and ecological quality of the water of the Neman and Viliya rivers.

Keywords: surface water, river ecosystems, biotic indices, macrozoobenthos, hot spots, environmental quality

For citation: Baitchorov V. M., Giginyak J. G., Moroz M. D., Giginyak I. J., Korzun E. V. Change in environmental water quality of Neman and Viliya rivers under the influence of city wastewater. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 16–29 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-16-29>

Введение. Качество поверхностных вод, в том числе речных, определяется физическими, химическими и биологическими критериями. Два первых критерия дают физическую или химическую оценку внешней среды, но не дают ответа на вопрос о состоянии водных экосистем, поэтому особое значение имеет биологический подход, который позволяет напрямую оценить экологическое качество поверхностных вод, независимо от состава и доз загрязняющих веществ.

Оценка качества воды на основе видового состава гидробионтов индикаторов предпринималась начиная с XIX в. [1–6]. Однако такой подход применим только в случае значительного пре-

образования биотопа или при высоких концентрациях загрязняющих веществ и малоэффективны при фоновых значениях. Поэтому для оценки качества водных экосистем все чаще используют индексы биологического разнообразия, которые применяются в популяционной экологии [7–8]. Такие биотические индексы позволяют оценивать экологическое качество поверхностных вод как при значительном антропогенном влиянии, так и при фоновых значениях. В настоящее время в Беларуси для оценки качества воды речных экосистем используется модифицированный индекс Вудивисса [9], который учитывает как наличие организмов-индикаторов, так и биологическое разнообразие в целом (количество таксономических групп донного сообщества).

Следует отметить, что оценка качества воды с помощью биоиндикации более эффективна, чем использование традиционной методологии, ориентированной на анализ физических нарушений и химического загрязнения (в частности, предельно допустимой концентрации, предельно допустимого выброса, нормы качества воды и др.).

Несмотря на обилие гидробиологических исследований речных экосистем Беларуси [10–14], практически отсутствует биоиндикационная оценка изменения экологического качества поверхностных вод вследствие сброса сточных вод и поверхностного стока городов в речные экосистемы.

Цель работы – определить воздействие сброса сточных вод и поверхностных стоков горячих точек («Гродно водоканал», «Столбцы водоканал» и «Вилейка водоканал») на экологическое качество воды речных экосистем Немана и Вилии с помощью биоиндикационной оценки макрозообентоса.

Задачи исследования – определение видового состава таксономических групп макрозообентоса, расчет биотических индексов и класса чистоты речных экосистем при воздействии городских сточных вод.

Настоящее исследование соответствует рекомендациям Водной рамочной директивы ЕС [15] и Водного кодекса Республики Беларусь [16].

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлось сообщество макрозообентоса речных экосистем Неманского речного бассейна (рек Неман и Вилия). Состав макрозообентоса определяли на 14 станциях отбора проб для 17 таксономических групп, используемых при расчете модифицированного индекса Вудивисса в соответствии с ТКП «Правила определения экологического (гидробиологического) статуса речных экосистем» [9]. На р. Неман сборы были выполнены в октябре 2016 г., на р. Вилия – в мае 2017 г.

Отбор гидробиологических проб. Отбор проб осуществляли при помощи стандартного гидробиологического сачка, используя метод траления в прибрежной части рек, а также методику отбора проб согласно Европейскому протоколу AQEM и стандарту ISO 7828. Для этого на каменистых грунтах и в местах развития макрофитов производили выемку камней и коряг с последующим их осмотром с целью отбора животных. Отобранные пробы макрозообентосных объектов фиксировали 96 %-ным спиртом.

Расчет биотических индексов. Для биологического анализа загрязненных вод по составу донных животных наиболее простым и достаточно удобным представляется разработанный для р. Трент в Англии метод Вудивисса [8], который позволяет определить, насколько уменьшается разнообразие фауны в условиях загрязнения. Нами использован модифицированный биотический индекс Вудивисса [9], который предполагает сбор только качественных проб, без учета обилия животных, и допускает определение особей до уровня таксономических групп, которые являются основными индикаторами экологического качества водных экосистем. В связи с тем что алгоритмы расчета индекса Вудивисса в разных литературных источниках различаются, нами приводится матрица для расчета модифицированного биотического индекса Вудивисса (табл. 1).

Как видно из табл. 1, самыми высокими биоиндикационными свойствами отличаются группы *Plecoptera* (веснянки), *Ephemeroptera* (поденки), *Trichoptera* (ручейники).

Существует много систем оценки качества поверхностных вод. Используемая в Беларуси система значительно приближена к рекомендованной Водной рамочной директивой ЕС. В табл. 2 приведены интеркалибровка значений индекса Вудивисса, характеристика и цветовое отображение класса чистоты воды, применяемых в Беларуси и в соответствии с рекомендациями Водной рамочной директивы ЕС.

Т а б л и ц а 1. Расчет модифицированного биотического индекса Вудивисса (Extended biotic index) согласно ТКП «Правила определения экологического (гидробиологического) статуса речных экосистем [11]

Table 1. Calculation of the Extended biotic index according to the TCP “Rules for determining the ecological (hydrobiological) status of river ecosystems” [11]

Индикаторный таксон	К-во таксонов	К-во таксономических групп				
		0–5	6–13	14–21	22–29	30 и более
Отр. <i>Plecoptera</i> , род <i>Heptagenia</i>	>1 1	– –	– –	8 7	9 8	10 9
Отр. <i>Ephemeroptera</i> , за исключением сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i>	>1 1	– –	6 5	7 6	8 7	9 8
Отр. <i>Trichoptera</i> , сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i>	>1 1	– –	5 4	6 5	7 6	8 7
Сем. <i>Gammaridae</i> , отр. <i>Odonata</i> , <i>Aphelocheirus aestivalis</i>	1	3	4	5	6	7
Класс <i>Hirudinea</i> , <i>Asellus aquaticus</i>	1	2	3	4	5	–
Класс <i>Oligochaeta</i> , сем. <i>Chironomidae</i>	1	1	2	3	–	–
Присутствуют виды-полисапробы	1	0	1	–	–	–

Т а б л и ц а 2. Система оценки качества воды (национальная и по рекомендациям Водной рамочной директивы ЕС [11, 17, 18]) на основе модифицированного биотического индекса Вудивисса

Table 2. The water quality assessment system (national and according to the recommendations of the EU water framework directive [11, 17, 18]) based on the modified Woodywiss Biotic Index based on the Extended biotic Index

Индекс Вудивисса	Класс чистоты	Характеристика качества воды		Цветовое обозначение
		Беларусь	Директива ЕС	
10-8	1	Очень чистая	Высокое	Синий
7-5	2	Чистая	Хорошее	Зеленый
4-3	3	Умеренно загрязненная	Невысокое	Желтый
2-1	4	Загрязненная	Низкое	Оранжевый
1-0	5	Грязная	Плохое	Красный
0	6	Очень грязная		

Результаты и их обсуждение. Горячая точка «Гродно водоканал». Идентификация видового состава макрозообентоса для оценки экологического качества воды р. Неман при воздействии горячей точки «Гродно водоканал» была выполнена на 5 станциях отбора проб (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп (№ 1–17, выделены жирным шрифтом) макрозообентоса для расчета значений модифицированного индекса Вудивисса на станциях отбора проб горячей точки «Гродно водоканал»

Table 3. The species composition and identification level of taxonomic groups (no. 1–17, shown in bold) of macrozoobenthos for calculating the values of the Extended Biotic Index at sampling stations of the “Grodno vodokanal” hot spot

Таксономическая группа	К-во особей в пробе				
	Станция 1	Станция 2	Станция 3	Станция 4	Станция 5
1. Nematoda (до класса)	–	–	–	–	–
2. Tricladidae (до рода)	–	–	–	–	–
3. Oligochaeta (без <i>Naididae</i>) (до класса)					
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)	–	–	9	–	–
<i>Oligochaeta gen. spp.</i>	3	26	123	526	223
4. Naididae (до семейства)	–	–	–	–	–
5. Hirudinea (до рода)					
<i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	1	–
<i>Glossiphonia heteroclita</i> (Linnaeus, 1761)	–	–	–	5	1
<i>Piscicola geometra</i> (Linnaeus, 1761)	–	–	–	1	1
<i>Erpobdella octoculata</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	1	–

Продолжение табл. 3

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе				
	Станция 1	Станция 2	Станция 3	Станция 4	Станция 5
6. Mollusca (до рода)					
<i>Viviparus viviparus</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	1	5
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (Pfeiffer, 1828)	–	–	–	–	1
<i>Bithynia tentaculata</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	5
<i>Valvata piscinalis</i> (O. F. Müller, 1774)	1	–	–	–	–
<i>Acroloxus lacustris</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	1	–	–
<i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	4	–	3	9	4
<i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	1	5	3
<i>Radix ampla</i> (Hartmann, 1841)	–	–	–	–	1
<i>Radix auricularia</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	1	–	–
<i>Radix sp.</i>	–	–	3	–	–
<i>Physella acuta</i> (Draparnaud, 1805)	–	1	1	–	–
<i>Physa fontinalis</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	3	2
<i>Anisus vortex</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	30	5
<i>Gyraulus albus</i> (O. F. Müller, 1774)	–	–	–	5	1
<i>Gyraulus crista</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	1
<i>Planorbium corneum</i> O. F. Müller, 1774	–	–	–	7	2
<i>Dreissena polymorpha</i> Pallas, 1771	1	–	–	–	–
<i>Pisidium sp.</i>	–	–	–	1	–
<i>Sphaerium sp.</i>	–	–	3	–	–
7. Crustacea (до рода)					
<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	2	3	8
<i>Gammarus varsoviensis</i> Jazdzewski, 1975	–	–	–	2	4
8. Hydrachnidae (до семейства)					
<i>Hydrachnidae gen. spp.</i>	–	2	–	–	–
9. Megaloptera (до рода)	–	–	–	–	–
10. Odonata (до рода)					
<i>Coenagrion puella</i> Linnaeus, 1758	–	–	–	9	–
<i>Coenagrion pulchellum</i> (Vander Linden, 1825)	–	–	–	1	3
<i>Erythronma najas</i> (Hansemann, 1823)	–	–	–	1	4
11. Plecoptera (до рода)	–	–	–	–	–
12. Ephemeroptera (до рода), за исключением сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i>					
<i>Heptagenia sp.</i>	–	–	1	–	–
13. Heteroptera (до рода)					
<i>Plea minutissima</i> Leach, 1817	–	–	–	1	11
<i>Sigara falleni</i> (Fieber, 1848)	–	–	–	22	129
<i>Sigara lateralis</i> (Leach, 1817)	–	–	–	2	–
<i>Sigara striata</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	64	25
<i>Corixidae gen. spp.</i>	–	–	–	3	4
14. Lepidoptera (до рода)					
<i>Cataclysta lemnata</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	2	23
15. Coleoptera (до рода)					
<i>Haliplus sp.</i>	2	–	1	3	3
<i>Noterus crassicornis</i> (O. F. Müller, 1776)	–	–	–	1	–
<i>Laccophilus hyalinus</i> (De Geer, 1774)	–	–	2	7	–
<i>Laccobius sp.</i>	–	–	–	3	–
16. Trichoptera , сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i> (до рода)					
<i>Cloeon simile</i> Eaton, 1870 (<i>Baetidae</i>)	2	–	4	39	318
<i>Tinodes waeneri</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–	–
<i>Hydroptila sp.</i>	1	–	–	–	–
<i>Limnephilus sp.</i>	–	–	–	11	4

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе				
	Станция 1	Станция 2	Станция 3	Станция 4	Станция 5
17. Diptera (до семейства)					
<i>Chironomidae gen. spp.</i>	3	127	98	39	3
<i>Ceratopogonidae gen. spp.</i>	–	1	2	1	1
<i>Limoniidae gen. spp.</i>	1	–	3	2	5
<i>Psychodidae gen. spp.</i>	–	–	–	3	1
<i>Tabanidae gen. spp.</i>	–	–	5	9	2

Примечание. Здесь и в табл. 4: станция 1 – д. Пригодичи, выше г. Гродно, 21 км выше сброса; станция 2 – сад. т-во Куколы, 200 м ниже сброса; станция 3 – д. Куколы, 1 км ниже сброса; станция 4 – д. Гожа, 7,6 км ниже сброса; станция 5 – д. Лукавица, 16,5 км ниже сброса, 3,7 км от литовской границы.

Всего в р. Неман в районе г. Гродно было выявлено 55 видов и форм представителей макрозообентосного и плейстонного комплексов, относящихся к трем типам беспозвоночных животных: Mollusca – 19, Annelida – 6 и Arthropoda – 30.

Наибольшее их количество (более 40 % от числа всех изученных водных беспозвоночных) было отмечено для комплекса видов малощетинковых червей, так называемых видов переработчиков, особенно вблизи государственной границы с Литвой (станции 4, 5, таксономическая группа № 3). Такое большое количество малощетинковых червей встречается, как правило, в загрязненных водах и совершенно не характерно для большинства рек Беларуси [14]. Эти же станции отличались наиболее богатой фауной и высокой численностью гидробионтов.

Среди выявленных водных беспозвоночных наибольший интерес представляет находка чужеродного вида моллюсков *Physella acuta* (Draparnaud, 1805) на станциях 2 и 3. Исторический ареал этого вида расположен на Американском континенте и включает северо-восток США и сопредельные территории Канады, Кубу. В настоящее время *Physella acuta* распространена в водоемах ряда стран Западной и Средней Европы [17]. В Беларуси вид известен только из верховий р. Неман, канала очистных сооружений г. Гомеля и водоема-охладителя Березовской ГРЭС [18].

Моллюски *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) и *Physa fontinalis* (Linnaeus, 1758) включены в Красный лист Чешской Республики, категория охраны NT [19].

На основании видового состава таксономических групп и их индикаторной значимости были рассчитаны значения модифицированного индекса Вудивисса на изученных станциях отбора проб горячей точки «Гродно водоканал» (табл. 4).

Таблица 4. Экологическое качество воды р. Неман при воздействии горячей точки «Гродно водоканал»

Table 4. Ecological water quality of the river Neman from the impact of the “Grodno vodokanal” hot spot

№ станции	Координаты местоположения станции	Число видов в таксономической группе			N	EVI	Класс чистоты воды
		<i>Pl</i>	<i>Eph</i>	<i>Tr</i>			
1	53°38'36.60"C 23°55'50.16"B	0	0	3	11	5	2. Хорошая
2	53°45'1.08"C 23°48'12.30"B	0	0	0	2	1	5. Плохая
3	53°45'31.68"C 23°48'35.10"B	0	1	1	15	6	2. Хорошая
4	53°48'26.10"C 23°51'14.34"B	0	0	2	31	8	1. Высокая
5	53°52'1.02"C 23°46'44.52" B	0	0	2	28	7	2. Хорошая

Примечание. Таксономические группы: *Pl* – Plecoptera, *Eph* – Ephemeroptera, *Tr* – Trichoptera, *N* – общее количество таксономических групп, *EVI* – модифицированный индекс Вудивисса. То же в табл. 6, 8.

Как видно из табл. 4, плохое экологическое качество воды получено только на станции, которая расположена в 200 м ниже сброса сточных вод на станции 2 вблизи садового товарищества Куколы. Через 1 км после сброса фауна макрозообентоса восстанавливается и далее качество воды имеет первый и второй класс чистоты. Таким образом, сточные воды г. Гродно хотя и ока-

зывают выраженное отрицательное влияние на р. Неман, но на весьма ограниченном участке в непосредственной близости от сброса сточных вод.

Горячая точка «Столбцы водоканал». Идентификация видового состава макрозообентоса для оценки экологического качества воды р. Неман при воздействии горячей точки «Столбцы водоканал» была выполнена для трех станций отбора проб (табл. 5).

Таблица 5. Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп (№ 1–17, выделены жирным шрифтом) макрозообентоса для расчета значений модифицированного индекса Вудивисса на станциях отбора проб горячей точки «Столбцы водоканал»

Table 5. The species composition and identification level of taxonomic groups (no. 1–17, shown in bold) of macrozoobenthos for calculating the values of the Extended biotic Index at sampling stations of the “Stolbtsy Vodokanal” hot spot

Таксономическая группа	К-во особей в пробе		
	Станция 1	Станция 2	Станция 3
1. Nematoda (до класса)	–	–	–
2. Tricladidae (до рода)	–	–	–
3. Oligochaeta (без <i>Naididae</i>) (до класса)			
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)	68	29	33
<i>Oligochaeta gen. spp.</i>	–	18	6
4. Naididae (до семейства)	–	–	–
5. Hirudinea (до рода)			
<i>Glossiphonia heteroclita</i> (Linnaeus, 1761)	1	–	–
<i>Glossiphonia concolor</i> (Apathy 1888)	1	–	–
<i>Helobdella stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	2	–	–
<i>Erpobdella nigricollis</i> (Brandes 1900)	1	–	–
<i>Erpobdella octoculata</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–
6. Mollusca (до рода)			
<i>Theodoxus fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)	9	26	2
<i>Viviparus viviparus</i> (Linnaeus, 1758)	7	15	1
<i>Bithynia leachi</i> (Sheppard, 1823)	3	2	–
<i>Bithynia tentaculata</i> (Linnaeus, 1758)	47	94	218
<i>Valvata piscinalis</i> (O. F. Müller, 1774)	7	2	–
<i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	10	14	16
<i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	16	23	11
<i>Radix auricularia</i> (Linnaeus, 1758)	1	1	5
<i>Physa fontinalis</i> (Linnaeus, 1758)	12	11	23
<i>Anisus vortex</i> (Linnaeus, 1758)	2	–	–
<i>Gyraulus albus</i> (O. F. Müller, 1774)	6	6	–
<i>Planorbarius corneus</i> O. F. Müller, 1774	2	–	–
<i>Planorbis planorbis</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	1
<i>Anodonta cygnea</i> (Linnaeus, 1758)	–	1	–
<i>Unio tumidus</i> (Philipson, 1788)	–	2	–
<i>Pisidium henslowanum</i> (Sheppard, 1823)	4	1	–
<i>Pisidium subtruncatum</i> Malm, 1855	1	–	–
<i>Sphaerium corneum</i> Linnaeus, 1758	–	–	9
<i>Sphaerium rivicola</i> (Lamarck, 1818)	5	–	1
7. Crustacea (до рода)			
<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	12	–	–
8. Hydrachnidae (до семейства)			
<i>Hydrachnidae gen. spp.</i>	–	–	1
9. Megaloptera (до рода)	–	–	–
10. Odonata (до рода)			
<i>Calopteryx virgo</i> (Linnaeus, 1758)	2	8	1
<i>Calopteryx splendens</i> (Harris, 1782)	1	19	12
<i>Coenagrion pulchellum</i> (Vander Linden, 1825)	4	–	3
<i>Coenagrion hastulatum</i> Charpentier, 1825	1	–	–

Таксономическая группа	К-во особей в пробе		
	Станция 1	Станция 2	Станция 3
<i>Coenagrion sp.</i>	–	3	–
<i>Erythromma najas</i> (Hansemann, 1823)	12	2	3
<i>Ischnura elegans</i> Vander Linden, 1820	2	–	–
<i>Platycnemis pennipes</i> (Pallas, 1771)	2	–	11
11. Plecoptera (до рода)	–	–	–
12. Ephemeroptera (до рода), за исключением сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i>			
<i>Heptagenia flava</i> (Rostock, 1877)	–	2	–
<i>Heptagenia sp.</i>	54	182	68
13. Heteroptera (до рода)			
<i>Nepa cinerea</i> Linnaeus, 1758	1	1	1
<i>Notonecta glauca</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–
<i>Micronecta minutissima</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–
<i>Gerris lacustris</i> (Linnaeus, 1758)	2	–	–
<i>Gerris sp.</i>	1	13	2
<i>Mesovelgia furcata</i> Mulsant et Rey, 1852	1	–	1
14. Lepidoptera (до рода)			
<i>Cataclysta lemnata</i> (Linnaeus, 1758)	7	4	–
<i>Parapoynx stratiotata</i> (Linnaeus, 1758)	1	1	–
15. Coleoptera (до рода)			
<i>Haliplus fluviatilis</i> Aubé, 1836	–	–	1
<i>Haliplus sp.</i>	3	–	4
<i>Hygrotus versicolor</i> (Schaller, 1783)	–	–	1
<i>Acilius canaliculatus</i> (Nicolai, 1822)	–	–	1
<i>Ilybius fuliginosus</i> (Fabricius, 1792)	1	–	–
<i>Laccophilus hyalinus</i> (De Geer, 1774)	1	–	9
<i>Platambus maculatus</i> (Linnaeus, 1758)	–	1	–
<i>Dytiscus sp.</i>	–	–	1
<i>Dytiscidae gen. spp.</i>	–	6	1
<i>Orectochilus villosus</i> (Müller, 1776)	–	2	–
<i>Gyrinidae gen. spp.</i>	–	2	–
<i>Scirtidae gen. spp.</i>	1	–	–
<i>Donacia sp.</i>	–	1	–
16. Trichoptera , сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i> (до рода)			
<i>Baetis vernus</i> Curtis, 1834	2	3	–
<i>Cloeon simile</i> Eaton, 1870	–	5	–
<i>Procloeon bifidum</i> (Bengtsson, 1912)	4	1	3
<i>Caenis macrura</i> (Stephens, 1835)	–	1	–
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Curtis, 1834)	1	–	–
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834)	–	1	–
<i>Holocentropus dubius</i> (Rambur, 1842)	5	–	–
<i>Neureclipsis bimaculata</i> (Linnaeus, 1761)	–	18	–
<i>Hydroptila sp.</i>	1	5	3
<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873	–	9	1
<i>Oxyethira sp.</i>	1	1	–
<i>Phryganea bipunctata</i> Retzius, 1783	–	–	2
<i>Molanna angustata</i> Curtis, 1834	3	–	–
17. Diptera (до семейства)			
<i>Centropogonidae gen. spp.</i>	–	1	1
<i>Chironomidae gen. spp.</i>	7	16	24
<i>Culicidae gen. spp.</i>	3	1	7
<i>Dixidae gen. spp.</i>	–	1	1

Примечание. Здесь и в табл. 6: станция 1 – автомобильный мост старой трассы Минск–Брест, выше сброса; станция 2 – автомобильный мост новой трассы Минск–Брест, ниже сброса; станция 3 – д. Жуков Борок, 12,5 км ниже сброса.

Всего в р. Неман в районе г. Столбцы выявлено 80 видов и форм представителей макрозообентосного и плейстонного комплексов, относящихся к трем типам беспозвоночных животных: Mollusca – 19, Annelida – 7 и Arthropoda – 54.

Некоторые виды оказались охраняемыми в ряде стран Европы. Так, в Красный лист Чешской Республики включены *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758), *Physa fontinalis* (Linnaeus, 1758), *Sphaerium rivicola* (Lamarck, 1818), категория охраны NT, и моллюск *Bithynia leachi* (Sheppard, 1823), категория охраны CR [19]. *Orectochilus villosus* (Müller, 1776) внесена в Красный список Республики Крым, категория охраны 3. Этот вид достаточно редок в Беларуси [20]. *Anodonta cygnea* (Linnaeus, 1758), охраняется в Норвегии [21]. *Ithytrichia lamellarus* (Eaton, 1873) включен в Красный лист Польши, категория охраны DD [22].

На основании видового состава таксономических групп и их индикаторной значимости были рассчитаны значения модифицированного индекса Вудивисса на изученных станциях отбора проб горячей точки «Столбцы водоканал» (табл. 6).

Таблица 6. Экологическое качество воды р. Неман при воздействии горячей точки «Столбцы водоканал»

Table 6. Ecological water quality of the river Neman from the impact of the “Stolbtsy vodokanal” hot spot

№ станции	Координаты местоположения станции	Число видов в таксономической группе			N	EBI	Класс чистоты воды
		<i>Pl</i>	<i>Eph</i>	<i>Tr</i>			
1	3°28'42.21"С 26°42'56.10"В	0	1	7	44	8	1. Высокая
2	53°29'53.77"С 26°39'06.17"В	0	1	6	38	8	1. Высокая
3	53°32'16.31"С 26°34'33.07"В	0	1	4	32	8	1. Высокая

Из табл. 6 видно, что класс чистоты экологического качества воды р. Неман остается на высоком уровне как непосредственно после сброса сточных вод (станция 2), так и на удалении 12,5 км от сброса (станция 3). Таким образом, сточные воды г. Столбцы не оказывают выраженного отрицательного влияния на р. Неман.

Горячая точка «Вилейка водоканал». Идентификация видового состава макрозообентоса для оценки экологического качества воды р. Вилия от воздействия горячей точки «Вилейка водоканал» была выполнена для 6 станций отбора проб (табл. 7).

Таблица 7. Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп (№ 1–17, выделены жирным шрифтом) макрозообентоса для расчета значений модифицированного индекса Вудивисса на станциях отбора проб горячей точки «Вилейка водоканал»

Table 7. The species composition and identification level of taxonomic groups (shown in bold numbers 1–17) of macrozoobenthos for calculating the values of the Extended biotic Index at sampling stations of the “Vileyka vodokanal” hot spot

Таксономическая группа	К-во особей в пробе					
	Станция 1	Станция 2	Станция 3	Станция 4	Станция 5	Станция 6
1. Nematoda (до класса)	–	–	–	–	–	–
2. Tricladidae (до рода)	–	–	–	–	–	–
3. Oligochaeta (без <i>Naididae</i>) (до класса) <i>Oligochaeta gen. spp.</i>	1	12	172	3	7	1
4. Naididae (до семейства)	–	–	–	–	–	–
5. Hirudinea (до рода) <i>Helobdella stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	13	–	–	–
6. Mollusca (до рода) <i>Bithynia leachi</i> (Sheppard, 1823) <i>Valvata piscinalis</i> (O. F. Müller, 1774) <i>Galba truncatula</i> (O. F. Müller, 1774) <i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	– – – 2	– 2 2 –	– – 1 –	– – 1 –	– – 3 2	– – – 3

Таксономическая группа	К-во особей в пробе					
	Станция 1	Станция 2	Станция 3	Станция 4	Станция 5	Станция 6
<i>Radix ampla</i> (Hartmann, 1841)	–	–	–	–	–	1
<i>Stagnicola palustris</i> (O. F. Müller, 1774)	3	–	–	–	–	–
<i>Physa fontinalis</i> (Linnaeus, 1758)	–	2	–	23	7	8
<i>Planorbarius corneus</i> O. F. Müller, 1774	–	1	–	2	–	–
<i>Planorbis planorbis</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–	–	–
7. Crustacea (до рода)						
<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	107	–	12	24	6	11
<i>Synurella ambulans</i> (F. Müller, 1846)	15	–	–	2	1	–
8. Hydrachnidae (до семейства)						
<i>Hydrachnidae gen. spp.</i>	3	2	–	–	9	–
9. Megaloptera (до рода)	–	–	–	–	–	–
10. Odonata (до рода)						
<i>Calopteryx virgo</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	–	4
<i>Calopteryx splendens</i> (Harris, 1782)	–	–	–	–	–	1
<i>Coenagrion pulchellum</i> (Vander Linden, 1825)	–	–	–	2	–	–
<i>Erythromma najas</i> (Hansemann, 1823)	–	–	–	1	–	–
<i>Platycnemis pennipes</i> (Pallas, 1771)	–	–	–	–	–	1
<i>Cordulia aenea</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	1	–	–
11. Plecoptera (до рода)						
<i>Nemoura cinerea</i> (Retzius, 1783)	–	–	–	2	122	–
12. Ephemeroptera (до рода), за исключением сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i>						
<i>Heptagenia flava</i> (Rostock, 1877)	–	1	–	–	–	–
<i>Heptagenia fuscogrisea</i> (Retzius, 1783)	–	–	–	1	1	–
<i>Leptophlebia marginata</i> Linnaeus, 1767	5	–	–	–	–	5
13. Heteroptera (до рода)						
<i>Plea minutissima</i> Leach, 1817	–	–	–	1	–	–
<i>Notonecta glauca</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–	–	–
<i>Lyocoris cimicoides</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	1	–
<i>Cymatia coleoprata</i> (Fabricius, 1777)	–	–	–	6	–	–
<i>Hesperocorixa linnaei</i> (Fieber, 1848)	2	–	–	–	–	–
<i>Sigara falleni</i> (Fieber, 1848)	–	1	–	12	6	–
<i>Sigara striata</i> (Linnaeus, 1758)	5	–	–	–	1	–
14. Lepidoptera (до рода)	–	–	–	–	–	–
15. Coleoptera (до рода)						
<i>Haliphus fluviatilis</i> Aubé, 1836	–	–	–	1	–	–
<i>Noterus crassicornis</i> (O. F. Müller, 1776)	1	–	–	–	–	–
<i>Haliphus fluviatilis</i> Aubé, 1836	–	–	–	–	1	–
<i>Hyphydrus ovatus</i> (Linnaeus, 1761)	–	–	–	–	1	–
<i>Lybius quadriguttatus</i> (Lacordaire, 1835)	–	–	–	–	1	–
<i>Laccophilus hyalinus</i> (De Geer, 1774)	–	–	–	2	–	1
<i>Rhantus latitans</i> Sharp, 1882	–	–	–	–	1	–
<i>Dytiscidae gen. spp.</i>	4	–	–	–	2	1
16. Trichoptera , сем. <i>Baetidae</i> и <i>Caenidae</i> (до рода)						
<i>Baetis buceratus</i> Eaton, 1870	3	56	–	2	–	26
<i>Baetis niger</i> (Linnaeus, 1761)	–	4	–	–	–	3
<i>Baetis rhodani</i> (Pictet, 1845)	–	1	–	–	–	–
<i>Centroptilum luteolum</i> (Müller, 1776)	–	3	–	6	–	1
<i>Cloeon simile</i> Eaton, 1870 (<i>Baetidae</i>)	4	2	–	114	214	–
<i>Caenis horaria</i> Linnaeus, 1758	3	–	–	–	–	–
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Curtis, 1834)	–	–	3	2	–	–
<i>Neureclipsis bimaculata</i> (Linnaeus, 1761)	–	–	–	–	–	1
<i>Mystacides longicornis</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–	–	–

Окончание табл. 7

Таксономическая группа	К-во особей в пробе					
	Станция 1	Станция 2	Станция 3	Станция 4	Станция 5	Станция 6
<i>Anabolia sp.</i>	93	57	–	76	17	121
<i>Limnephilus fuscineris</i> (Zetterstedt, 1840)	–	4	–	–	–	–
<i>Limnephilus nigriceps</i> (Zetterstedt, 1840)	1	–	–	–	–	1
<i>Limnephilus rhombicus</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	1	–	1
<i>Limnephilus sp.</i>	2	–	–	7	1	1
17. Diptera (до семейства)						
<i>Centropogonidae gen. spp.</i>	2	2	–	–	–	2
<i>Chironomidae gen. spp.</i>	197	7	942	24	17	2
<i>Culicidae gen. spp.</i>	4	3	4	9	31	10
<i>Limoniidae gen. spp.</i>	–	1	–	–	–	–
<i>Dixidae gen. spp.</i>	–	–	–	–	4	–
<i>Psychodidae gen. spp.</i>	–	–	–	–	1	1
<i>Ptychopteridae gen. spp.</i>	5	–	–	–	–	–
<i>Simuliidae gen. spp.</i>	2	3	9	–	–	1
<i>Tabanidae gen. spp.</i>	–	–	–	–	2	1
<i>Tipuliidae gen. spp.</i>	1	–	–	–	–	–

Примечание. Здесь и в табл. 8: станция 1 – д. Ставки, 6,3 км выше сброса; станция 2 – д. Глинное, 1,5 км выше сброса; станция 3 – д. Ручевые, мелиоративная канава (р. Вьюновка), 1,2 км ниже отстойников, 0,5 км до впадения в р. Виляя; станция 4 – р. Виляя, д. Доманово, 5,7 км ниже сброса; станция 5 – д. Мамаи, 11,9 км ниже сброса; станция 6 – д. Шведы, 21,0 км ниже сброса.

Всего в р. Виляя в районе г. Вилейки было выявлено 92 вида и форм представителей макрозообентосного и плейстонного комплексов, относящихся к трем типам беспозвоночных животных: Mollusca – 15, Annelida – 2 и Arthropoda – 75.

Анализ видового состава показал, что на всех изученных станциях видовое богатство было достаточно стабильным – 29–30 видов. Исключение составляла станция 3 (мелиоративный канал ниже сброса сточных вод). На этой станции отмечено всего 11 видов гидробионтов. Важнейшие индикаторные группы представлены только одним видом ручейников, а веснянки и поденки вообще отсутствуют. В то же время численность животных очень высокая – 1168 особей. Особенно это касалось представителей *Diptera* и *Oligochaeta*. Численность двукрылых составила более 80, а олигохет – более 11 %, что характерно для загрязненных вод.

Среди выявленных водных беспозвоночных наибольший интерес представляет находка интерстициального вида – *Synurella ambulans* (F. Müller, 1846), включенная в Приложение к Красной книге Республики Беларусь как вид, требующий дополнительного изучения и внимания в целях профилактической охраны (категория DD) [23]. *Synurella ambulans* является древнепресноводным видом североамериканского происхождения. Ледниковую эпоху пережил благодаря проникновению в подземные воды. Присутствие этого вида в экосистеме часто указывает на родниковый тип питания водоема [24]. Этот вид охраняется в Чехии, категория охраны VU [25]. Обнаружены также виды *Bithynia leachi* (Sheppard, 1823) и *Physa fontinalis* (Linnaeus, 1758), включенные в Красный лист Чешской Республики [19].

На основании видового состава таксономических групп и их индикаторной значимости были рассчитаны значения модифицированного индекса Вудивисса на изученных станциях отбора проб горячей точки «Вилейка водоканал» (табл. 8).

Как видно из табл. 8, невысокое экологическое качество воды получено только для спрямленной р. Вьюновка (станция 3), которая является водоприемником сточных вод г. Вилейки. Для остальных станций отбора проб характерен первый и второй класс качества воды. Таким образом, сточные воды г. Вилейки оказывают выраженное отрицательное влияние только на водоприемник сточных вод р. Вьюновка и существенно не влияют на экологическое качество р. Виляя.

Таблица 8. Экологическое качество воды р. Неман при воздействии горячей точки «Вилейка водоканал»

Table 8. Ecological water quality of the river Neman from the impact of the “Vileyka vodokanal” hot spot

№ станции	Координаты местоположения станции	Число видов в таксономической группе			N	EVI	Класс чистоты воды
		<i>Pl</i>	<i>Eph</i>	<i>Tr</i>			
1	54°28'46.31"С 26°55'27.83"В	0	1	6	24	7	2. Хорошая
2	54°27'13.98"С 26°54'1.13"В	0	1	5	18	6	2. Хорошая
3	54°27'42.77"С 26°52'33.74"В	0	0	1	10	4	3. Невысокая
4	54°25'42.22"С 26°50'24.35"В	1	1	6	24	8	1. Высокая
5	54°25'22.10"С 26°46'59.73"В	1	1	3	24	8	1. Высокая
6	54°25'11.71"С 26°42'5.69"В	0	1	5	21	6	2. Хорошая

Заключение. Идентификация видового состава макрозообентоса изученных станций рек Немана и Вилейки показала, что в этих реках обитают редкие и охраняемые в ряде стран Европы виды гидробионтов. Среди них моллюски, жесткокрылые, ручейники, ракообразные [19–22]. Бокоплав *Synurella ambulans* (F. Müller, 1846) включен в Приложение к Красной книге Республики Беларусь, категория DD [23].

Изучение видового состава макрозообентоса р. Неман показало, что здесь отсутствует самая приоритетная индикаторная группа гидробионтов – веснянки. В районе г. Гродно не отмечено и второй индикаторной группы – поденок. Третья индикаторная группа – ручейники – представлена одним видом и только на одной станции отбора проб. В районе г. Столбцы поденки и ручейники присутствуют на всех станциях отбора проб. В р. Вилия присутствуют все три основные индикаторные группы гидробионтов.

Кроме различий видового состава выявлена существенная разница в численности особей видов разной экологической значимости. Так, для г. Гродно на значительном удалении от действия сточных вод, вблизи белорусско-литовской границы, отмечена большая численность для комплекса видов малощетинковых червей – видов переработчиков. В то же время на этих же станциях обнаружено большое число таксономических групп гидробионтов. Подобные различия между видовым богатством и численностью разных экологических групп макрозообентоса можно объяснить не столько влиянием сточных вод, сколько, согласно теории речного континуума [26], сменой сообществ гидробионтов вдоль течения реки в соответствии с изменением физических факторов, когда биота реки закономерно меняется вдоль речного русла в верхнем, среднем и нижнем течении.

Влияние горячих точек «Столбцы водоканал» и «Вилейка водоканал», рассчитанное на основе биотических индексов, практически не сказывается на экологическом качестве воды рек Неман и Вилия даже вблизи сброса сточных вод. Для р. Неман такую ситуацию можно объяснить высокой степенью разбавления сточных вод с очистных сооружений г. Столбцы. Сброс сточных вод с очистных сооружений г. Вилейка осуществляется в р. Вьюновка, где происходит частичное самоочищение воды до ее попадания в р. Вилия. Влияние горячей точки «Гродно водоканал» проявляется только на протяжении 1 км вдоль течения р. Неман непосредственно после сброса сточных вод.

Таким образом, можно считать, что воздействие сточных вод городов Гродно, Столбцы и Вилейки имеет весьма локальное значение и слабо влияет на экологическое качество воды рек Неман и Вилия.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке подпрограммы 01 «Рациональное природопользование и инновационные технологии глубокой переработки природных ресурсов» ГНТП «Природопользование и экологические риски» на 2016–2020 гг.

Acknowledgements. This work was financially supported by subprogram 01 “Rational use of natural resources and innovative technologies for the deep processing of natural resources” of the State Scientific and Technical Program “Nature Management and Environmental Risks” for 2016–2020.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Hassal, A. N. A microscopic examination of the water supplied to the inhabitants of London and the suburban districts / A. N. Hassal. – London : Samuel Highley, 1850. – 69 p.
2. Knopp, H. Ein neuer Weg zur Darstellung biologischer Vorfluteruntersuchungen, erlautert an einem Gutelangsschnitt des Maines / H. Knopp // Wasserwirtschaft. – 1954. – Jg. 45. – S. 9–15.
3. Knopp, H. Grundsätzliches zur Frage biologischer Vorfluteruntersuchungen erlautet an einem Gutelangsschnitt des Mains / H. Knopp // Arch. Hydrobiol. – 1955. – Suppl. 22, Bd. 3/4. – S. 363–368.
4. Liebmann, H. Handbuch der Frischwasser und Adwasserbiologie / H. Liebmann. – Munich : R. Oldenburg, 1951. – Bd. 1. – 539 S.
5. Sládeček, V. System of water quality from the biological point of view / V. Sládeček. – Stuttgart : Schweizerbart, 1973. – 218 p.
6. Zelinka, M. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer / M. Zelinka, P. Marvan // Arch. Hydrobiol. – 1961. – Bd. 57, H. 3. – S. 389–407.
7. Shannon, C. E. A mathematical theory of communication / C. E. Shannon // Bell Syst. Tech. J. – 1948. – Vol. 27. – P. 379–423, 623–656.
8. Woodiwiss, F. S. The biological system of stream classification used by the Trent River board / F. S. Woodiwiss // Chemistry and Industry. – 1964. – Vol. 11. – P. 443–447.
9. Охрана окружающей среды и природопользование. Аналитический контроль и мониторинг: ТКП. 17.13-XX-201X (02120) // Правила определения экологического (гидробиологического) статуса речных экосистем / Минприроды. – Минск, 2017. – 17 с.
10. Байчоров, В. М. Экологическое качество воды трансграничных рек Полесского региона (Беларусь – Украина) / В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Проблемы Полесья : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, сентябрь 2016 г. – Минск, 2016. – С. 76–79.
11. Мороз, М. Д. Видовой состав водных беспозвоночных трансграничных водотоков между Беларусью и Литвой / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Природ. ресурсы. – 2017. – № 1. – С. 47–53.
12. Мороз, М. Д. Фауна водных беспозвоночных водотоков Национального парка «Беловежская пуща» / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Журн. БГУ. Биология. – 2017. – № 3. – С. 68–75.
13. Байчоров, В. М. Оценка экологического состояния речных экосистем от воздействия городских стоков на основе индикаторных групп макрозообентоса / В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Актуальные проблемы охраны животного мира в Беларуси и сопредельных регионах : материалы 1-й Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 15–18 окт. 2018 г. / ред.: А. В. Кулак [и др.]. – Минск, 2018. – С. 44–49.
14. Мороз, М. Д. Видовой состав водных беспозвоночных реки Вилии / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Вес. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 401–408.
15. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Offic. J. Eur. Commun. – 2000. – L 327. – P. 1–72.
16. Водный кодекс Республики Беларусь [Электронный ресурс] // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <http://www.pravo.by/document/?guid=12551&p0=Hk1400149&p1=1>. – Дата доступа: 05.12.2019.
17. Taylor, D. W. Introduction to Physidae (Gastropoda, Hygrophila); biogeography, classification, morphology / D. W. Taylor // Revista de Biologia Tropical. – 2003. – Vol. 51. – Suppl. 1. – P. 1–263, 265–287.
18. Лаенко, Т. М. Фауна водных моллюсков Беларуси / Т. М. Лаенко. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 128 с.
19. Beran, L. Mollusca (měkkýši) / L. Beran, L. Juříčková, M. Horská // Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí / eds. J. Farač, D. Král, M. Škorpík. – Praha, 2005. – P. 69–74.
20. Красные книги. Законодательство в сфере охраны животного и растительного мира [Электронный ресурс] // Особо охраняемые природные территории России. – Режим доступа: <http://oort.aari.ru/rbdata>. – Дата доступа: 05.12.2019.
21. Sneli, J.-A. Bløtdyr Mollusca / J.-A. Sneli, J. Evertsen, P. Joothannessen // Norsk Rødliste for arter 2010 = The Norwegian Red List for Species. – Artstbanken, 2010. – P. 382–383.
22. Szczygły, B. Czuściki (Trichoptera) / B. Szczygły // Czerwona lista zwierząt ginących i zagrożonych w Polsce / Instytut Ochrony Przyrody PAN ; red. Z. Głowaciński. – Kraków, 2002. – P. 76–79.
23. Красная книга Республики Беларусь. Животные: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных / И. М. Кочановский [и др.]. – 4-е изд. – Минск : Беларус. энцыкл., 2015. – 317 с.
24. Бентосные животные родниковых экосистем Национального парка «Браславские озера» / М. Д. Мороз [и др.] // Вес. Нац. акад. навук. Сер. біял. навук. – 2007. – № 4. – С. 100–106.
25. Ďuriš, S. Amphipoda (různonožci) / S. Ďuriš, I. Horská // Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí / eds. J. Farač, D. Král, M. Škorpík. – Praha, 2005. – P. 102–103.
26. The river continuum concept / R. L. Vannote [et al.] // Can. J. Fish. Aquatic Sci. – 1980. – Vol. 37, N 1. – P. 130–137. <https://doi.org/10.1139/f80-017>

References

1. Hassal A. N. *A microscopic examination of the water supplied to the inhabitants of London and the suburban districts*. London, Samuel Highley, 1850. 69 p.
2. Knopp H. Ein neuer Weg zur Darstellung biologischer Vorfluteruntersuchungen, erlautert an einem Gutelangsschnitt des Maines. *Die Wasserwirtschaft*, 1954, Jg. 45, S. 9–15.

3. Knopp H. Grundsätzliches zur Frage biologischer Vorfluterungen erlaudet an einem Gütelangsschnitt des Mains. *Archiv für Hydrobiologie*, 1955, Suppl. 22, Bd. 3/4, S. 363–368.
4. Liebmann H. *Handbuch der Frischwasser und Adwasserbiologie. Bd. I.* Munich, R. Oldenburg, 1962. 539 S.
5. Sládeček V. *System of water quality from the biological point of view.* Stuttgart, Schweizerbart, 1973. 218 p.
6. Zelinka M., Marvan P. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Archiv für Hydrobiologie*, 1961, Bd. 57, H. 3, S. 389–407.
7. Shannon E. E. A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal*, 1948, vol. 27, pp. 379–423, 623–656.
8. Woodiwiss F. S. The biological system of stream classification used by the Trent River board. *Chemistry and Industry*, 1964, vol. 11, pp. 443–447.
9. Environmental protection and nature management. Analytical control and monitoring. *Rules for determining the ecological (hydrobiological) status of river ecosystems.* Ministry of Natural Resources, TCP. 17.13-XX-201X (02120). Minsk, 2017. 17 p. (in Russian).
10. Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Ecological water quality of transboundary rivers of the Polesie region (Belarus – Ukraine). *Problemy Poles'ya: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, Minsk, sentyabr' 2016 goda* [Problems of Polesie: Materials of the International scientific and practical conference, Minsk, September 2016]. Minsk, 2016, pp. 76–79 (in Russian).
11. Moroz M. D., Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. The species composition of aquatic invertebrates of transboundary watercourses between Belarus and Lithuania. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2017, no. 1, pp. 47–53 (in Russian).
12. Moroz M. D., Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Fauna of aquatic invertebrate watercourses of the National Park “Belovezhskaya Pushcha”. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2017, no. 3, pp. 68–75 (in Russian).
13. Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Assessment of the ecological state of river ecosystems from the impact of urban runoff based on indicator groups of macrozoobenthos. *Aktual'nye problemy okhrany zhitvotnogo mira v Belarusi i sopredel'nykh regionakh: materialy I Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 15–18 oktyabrya 2018 goda)* [Current challenges in Belarus and adjacent regions wildlife protection: Materials of the I International scientific and practical conference (Minsk, October 15–18, 2018)]. Minsk, 2018, pp. 44–49 (in Russian).
14. Moroz M. D., Baichorov V. M. Fauna of aquatic invertebrates of the Viliya river. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 401–408 (in Russian).
15. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*, 2000, L 327, pp. 1–72.
16. The Water Code of the Republic of Belarus. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus.* Available at: <http://www.pravo.by/document/?guid=12551&p0=Hk1400149&p1=1> (accessed 05.12.2019) (in Russian).
17. Taylor D. W. Introduction to Physidae (Gastropoda, Hygrophila); biogeography, classification, morphology. *Revista de Biologia Tropical*, 2003, vol. 51, suppl. 1, pp. 1–263, 265–287.
18. Laenko T. M. *Fauna of aquatic mollusks of Belarus.* Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 128 p. (in Russian).
19. Beran L., Juřičrová L., Horsák M. Mollusca (měkkýši) *Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí.* Praha, 2005, pp. 69–74.
20. Red books. Legislation in the field of conservation of flora and fauna. *Specially Protected Natural Territories of Russia.* Available at: <http://oopt.aari.ru/rbdata> (accessed 05.12.2019) (in Russian).
21. Sneli J.-A., Evertsen J., Joohannessen P. Bløtdyr Mollusca. *Norsk Rødliste for arter 2010 = The Norwegian Red List for Species.* Artstabenken, 2010, pp. 382–383.
22. Szczęśny B. Chruściki (Trichoptera). *Czerwona lista zwierząt ginących i zagrożonych w Polsce.* Kraków, 2002, pp. 76–79 (in Polish).
23. Kachanovskii I. M., Nikiforov M. E., Parfenov V. I., Borodin O. I., Pugachevskii A. V., Baichorov V. M. [et al.]. *The Red Book of the Republic of Belarus. Animals.* Minsk, Belorusskaya Entsyklopedyya I. P. Brouki, 2015. 320 p.
24. Moroz M. D., Baichorov V. M., Tishchikov I. G., Toropov V. V. Benthic animals of spring ecosystems of the Braslav Lakes National Park. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2007, no. 1, pp. 100–106 (in Russian).
25. Ďuriš S., Horká I. Amphipoda (různonožci) *Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí.* Praha, 2005, pp. 102–103.
26. Vannote R. L., Minshall G. W., Cummins K. W., Sedell J. R., Cushing C. E. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1980, vol. 37, pp. 130–137. <https://doi.org/10.1139/f80-017>

Информация об авторах

Баїчорав Влaдaмaр Мухтaрoвaч – д-р бaлa. нaук, зaвeдyючaй сeктoрoм. Нaучнo-пpaктичeскaя цeнтр НАН Бeлaрyсa пo бaлaрyсaм (yл. Aкaдeмичeскaя, 27, 220072, г. Mинск, Рeспyблaкa Бeлaрyсь). E-mail: vbaitch@gmail.com

Information about the authors

Vladimir M. Baichorov – D. Sc. (Biol.), Head of the sector. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vbaitch@gmail.com

Гигиняк Юрий Григорьевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: antarctida_2010@mail.ru

Мороз Михаил Дмитриевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mdmoroz@bk.ru

Гигиняк Ирина Юрьевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: i.giginyak@gmail.com

Корзун Егор Викторович – ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natrx109@gmail.com

Yuri G. Giginyak – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: antarctida_2010@mail.ru

Michael D. Moroz – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mdmoroz@bk.ru

Irina J. Giginyak – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: i.giginyak@gmail.com

Egor V. Korzun – Senior researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natrx109@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 630*/504.6:62/69

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-30-42>

Поступила в редакцию 18.11.2019

Received 18.11.2019

И. П. Вознячук¹, А. А. Моложавский², А. В. Судник¹, Н. Л. Вознячук¹

¹*Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

²*Белорусское общество охотников и рыболовов, Минск, Республика Беларусь*

ОСНОВНЫЕ ТРЕНДЫ ДИНАМИКИ ЛЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ БУФЕРНОЙ ЗОНЫ НОВОПОЛОЦКОГО НЕФТЕПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ 25-ЛЕТНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ)

Аннотация. Обобщены оригинальные результаты 25-летнего мониторинга лесной растительности буферной зоны Новополоцкого нефтепромышленного комплекса (ННПК). Проведен анализ количественных и качественных изменений, произошедших в период 1990–2015 гг. функционирования предприятий ННПК с различным объемом выбросов. Детальное изучение организации растительного покрова показало, что наиболее трансформированные участки леса примыкают к предприятиям с подветренной стороны. За 25-летний период исследования площадь коренных фрагментов лесов в 500-метровой зоне воздействия ННПК сократилась в 2,6 раза, а леса представлены в основном производными мелколиственными сообществами, сформировавшимися на месте погибших хвойных древостоев сразу после пуска заводов. Отклик растительности на снижение в 1990-е годы техногенного пресса проявился в активных демутационных преобразованиях. Последнее время отмечается также доминирование восстановительных процессов, но при этом продолжается смена коренных сосняков и ельников на производные, что выражается в пролонгированном распаде фрагментов расстроенных ранее древостоев. Направленность и темпы смены одних растительных группировок другими зависят от исходного состояния растений, видовой и возрастной структуры сообществ, условий их произрастания и своеобразия факторов окружающей среды. Однако в целом лесные экосистемы региона сохранили способность к регенерации состава и структуры.

Ключевые слова: лесная растительность, парцеллярная структура, трансформация, тренды динамики, буферная зона, техногенное воздействие, Новополоцкий нефтепромышленный комплекс

Для цитирования: Основные тренды динамики лесных насаждений буферной зоны Новополоцкого нефтепромышленного комплекса (по результатам 25-летних исследований) / И. П. Вознячук [и др.] // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 30–42. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-30-42>

Irina P. Voznyachuk¹, Anatoli A. Malazhavski², Aliaksandr V. Sudnik¹, Nikolai L. Voznyachuk¹

¹*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

²*Belarusian Society of Hunters and Fishermen, Minsk, Republic of Belarus*

MAIN TRENDS IN THE DYNAMICS OF FOREST PLANTATIONS IN THE BUFFER ZONE OF THE NOVOPOLOTSK REFINERY COMPLEX (BASED ON THE RESULTS OF A 25-YEAR RESEARCH)

Abstract. The unique results of the 25-year monitoring of forest vegetation of the buffer zone at the Novopolotsk Refinery Complex (NIRC) were summarized. The analysis of quantitative and qualitative changes in the buffer zone, which occurred during the period 1990–2015 years of operation of NRC's enterprises, is given. Detailed analysis of vegetation organization has shown that the most transformed forest areas are directly adjacent to the enterprises from the leeward side. During the 25-year period of research, the area of primary forest fragments in the 500-meter zone of NRC impact has decreased by 2.6 times. Derivatives of small-leaved communities formed at the place of dead coniferous stands immediately after the commissioning of the plants are presented here. The technogenic press reduction in the 1990s resulted in the active demutation transformations of vegetation. Recently, there has also been a dominance of restoration processes, but the change of the main pine and spruce stands to derivatives continues, which is reflected in the prolonged decomposition of fragments of previously disturbed stands. The direction and rates of change of some plant groups by others depend on the initial state of plants, species and age structure of communities, conditions of their growth and environmental factors. In general, it is noted that forest ecosystems of the region have retained the ability to regenerate the composition and structure.

Keywords: forest vegetation, parcellar structure, transformation, dynamics trends, sanitary protection zone, technogenic impact, Novopolotsk Refinery Complex

For citation: Voznyachuk I. P., Molozhavski A. A., Sudnik A. V., Voznyachuk N. L. Main trends in the dynamics of forest plantations in the buffer zone of the Novopolotsk Refinery Complex (based on the results of a 25-year research). *Vestni Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 30–42 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-30-42>

Введение. Важным компонентом урбанизированного природного комплекса Новополоцка является растительность санитарно-защитной зоны (далее – СЗЗ). Целью создания таких зон является установление защитного барьера между предприятием (группой предприятий) и территорией жилой застройки, обеспечивающего экранирование, ассимиляцию и фильтрацию загрязнителей атмосферного воздуха, а также повышение комфортности микроклимата среды.

При этом леса СЗЗ принимают на себя главный удар всего комплекса негативного воздействия в результате функционирования промышленных предприятий. Помимо мощной техногенной нагрузки лесные экосистемы испытывают и другие виды антропогенного давления: разветвленная дорожная сеть, многочисленные линии электропередачи и продуктопроводов, промплощадки, свалки, очистные сооружения, мелиоративные и отводные каналы, карьеры, интенсивная рекреация, строительство гаражей, коттеджных и дачных поселков, биологическое загрязнение и т. п.

Степень воздействия на леса проявляется в выпадении отдельных видов, частичной или полной замене одних растительных сообществ другими, снижении их устойчивости, продуктивности, функциональной эффективности. В связи с этим для лесохозяйственного производства, рационального природопользования и обеспечения комфорта для города остаются актуальными вопросы усиления защитных свойств и сохранности оптимальной структуры лесных экосистем в буферных зонах промышленных предприятий.

Цель исследования – по результатам 25-летних мониторинговых наблюдений оценить состояние, степень нарушенности, скорость трансформации, характер и направленность сукцессионных процессов в зонах активного антропогенного воздействия (на примере лесов санитарно-защитной зоны Новополоцкого нефтепромышленного комплекса).

Объекты и методы исследования. Исследования проводили с 1990 по 2015 г. в лесах буферной зоны, подверженных воздействию выбросов крупнейшего на севере Беларуси Новополоцкого промышленного комплекса, предприятия которого относятся к нефтеперерабатывающей (ПО «Полимир» и ПО «Нафтан»), микробиологической (завод белково-витаминных концентратов – БВК), топливно-энергетической (ТЭЦ) и другим отраслям промышленности. Новополоцкий нефтеперерабатывающий комплекс (далее – ННПК), относящийся к числу наиболее крупных промышленных центров Республики Беларусь, стабильно занимает лидирующие позиции по объемам выбросов загрязняющих веществ в атмосферу. Основными компонентами эмиссий являются диоксид серы, углеводороды, окислы азота, сажа, фенол, аммиак, пыль. Общий объем выбросов в период максимального уровня производства (1989–1990 гг.) превышал 150 000 тыс. т в год, с 1996 г. валовые выбросы сократились по сравнению с 1990 г. в 2,4 раза, снизившись к 2000 г. до 39 тыс. т в год. В последние 15 лет общий объем выбросов предприятий Новополоцка варьировался в пределах 47–80 тыс. т в год (рис. 1). Доля выбросов от завода БВК не превышала 0,5 тыс. т даже в год наибольших объемов выбросов (1991 г.).

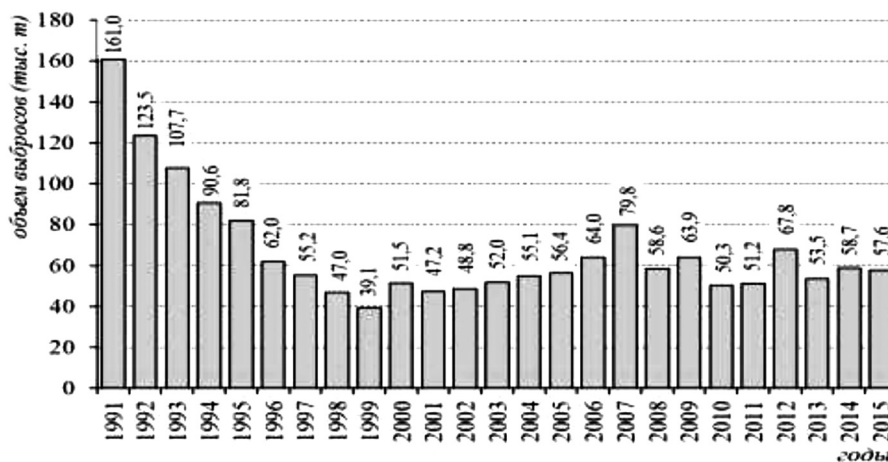


Рис. 1. Динамика промышленных выбросов в атмосферу г. Новополоцк (по данным Экологического бюллетеня «Состояние природной среды Беларуси» за 1990–2015 гг.)

Fig. 1. Dynamics of industrial emissions into the atmosphere of Novopolotsk city (according to the Environmental Bulletin “State of the Environment of Belarus” for 1990–2015)

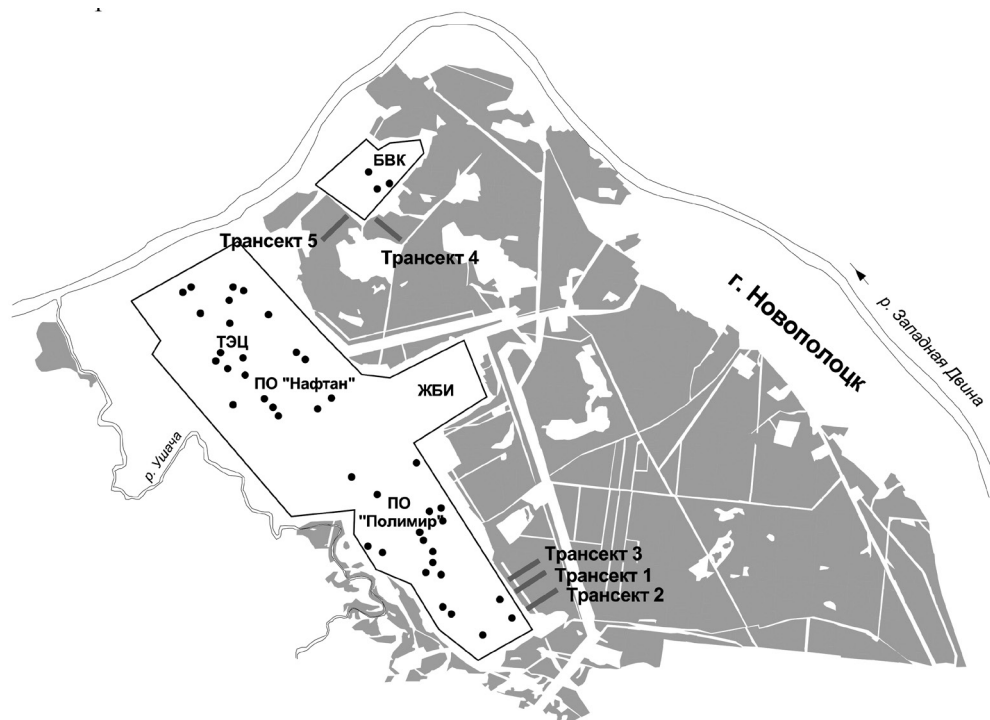


Рис. 2. Карта-схема расположения трансектов по отношению к предприятиям ННПК

Fig. 2. Map-scheme of transects location with reference to NRC enterprises

В зонах наиболее интенсивного загрязнения и высоких градиентов концентраций его компонентов (у ветроударных опушек вблизи от источников эмиссий) было заложено 5 ленточных пробных площадей (трансект) шириной 10 и длиной 500 м, сориентированных от опушек, примыкающих к промышленным объектам, в глубь лесного массива (рис. 2). Три трансекта (№ 1–3) расположены в зоне воздействия предприятий нефтехимического профиля (ПО «Полимир») с 20-летним сроком работы, трансекты 4 и 5 – в окрестности завода БВК с 17-летним сроком эксплуатации к моменту начала исследований. Последние испытывают также воздействие ПО «Нафтан» и ТЭЦ, расположенных на некотором удалении (1 км от конца трансектов), но обладающих более мощными и активными компонентами выбросов.

В основу исследований было положено детальное изучение изменений в видовом составе, структуре и функциях лесных сообществ, которое проводилось в соответствии с представлениями о парцеллярном сложении лесных фитоценозов с использованием классификаций динамических типов парцелл [1]. Исследование пространственной организации сообществ включало картирование лесной растительности методом фиксирования парцелл.

Парцелла рассматривается как структурная часть объемного членения лесной экосистемы и характеризуется определенным составом, строением, свойствами компонентов, спецификой их взаимосвязей и материально-энергетического обмена [2]. Парцеллы диагностируются по локальному составу доминантов всех ярусов фитоценоза (например, елово-березово-черничная) с соблюдением принципа «сверху вниз». Для понимания подхода к оценке динамических процессов в растительных сообществах приводим классификацию категорий динамического состояния парцелл [1].

I. Коренные – парцеллы, по облику и видовому составу доминантов типичные для климаксовых сообществ, характерных для конкретных местообитаний.

1. *Коренные* (собственно коренные) (К) – парцеллы, типичные по облику и видовому составу для климаксовых сообществ при ненарушенной структуре всех ярусов. Наиболее стабильный тип парцелл.

2. *Коренные нарушенные* (КН) – коренные парцеллы, в которых разрушен один из ярусов (как правило, древостоя) при неизменной структуре остальных. Неустойчивый, быстро переходящий в другие тип парцелл.

3. *Коренные трансформированные дигрессивные* (КТДг) – парцеллы, сохраняющие облик и отчасти видовой состав коренных, но с преобладанием дигрессивных процессов во всех ярусах растительности (как правило, на фоне повреждения древостоя коренной формации или загрязнения).

4. *Коренные трансформированные демутуирующие* (КТДм) – трансформированные коренные парцеллы, в которых преобладают процессы восстановления коренной структуры при сохранившемся (частично или полностью) древостое коренной формации.

II. Производные – парцеллы, утратившие облик и видовой состав коренных в результате разрушения или дигрессивных процессов под влиянием внешних воздействий.

5. *Производные дигрессивные* (ПДг) – производные парцеллы, в которых продолжаются процессы смены коренных видов видами производных и синантропных сообществ и деградации условий местообитания. Парцеллы с нестабильной, динамичной структурой.

6. *Производные демутуирующие* (ПДм) – производные парцеллы с преобладанием процессов восстановления коренного растительного комплекса (обычно при снятии или ослаблении внешней нагрузки). Эта группа, в свою очередь, подразделяется на 6.1 – *производные ранних стадий демутации* (ПрДм), 6.2 – *производные поздних стадий демутации* (ПпДм).

7. *Производные синантропные* (ПС) – растительные группировки синантропизированных участков (лесные дороги, канавы, свалки, загрязненные площади и др.), часто с сильно измененным эдафотопом. Устойчивы при сохранении неблагоприятного внешнего воздействия.

III. Пионерные.

8. *Пионерные* (Пн) – растительные группировки, возникшие на участках с временно уничтоженной растительностью или на вновь возникших субстратах.

IV. Субстраты.

9. *Субстраты* (СС) – обнаженные участки минеральных (ССм) или органических (СС) субстратов, лишенные растительности.

Картирование парцелл с 1990 по 2015 г. проводили на 5 трансектах с периодичностью в 5 лет.

Результаты и их обсуждение. Естественным при строительстве и функционировании промышленных предприятий является частичное уничтожение растительности. При этом система коммуникаций, особенно вблизи предприятий, не находится в статичном состоянии, а постоянно расширяется [3]. Такие вмешательства изменяют водный, воздушный, световой и другие режимы в фитоценозах, что влечет за собой перестройку растительных сообществ и в сочетании с техногенными нагрузками снижает устойчивость популяций отдельных видов растений и их сообществ [4–7].

Одним из важнейших этапов в исследовании лесов, подверженных масштабным антропогенным воздействиям, является интегральная оценка трендов динамики структуры и состояния лесов на уровне массива в целом. Анализ данных лесоустройства 1993 и 2005 гг. показал, что в лесах СЗЗ ННПК наблюдается активная смена коренных биогеоценозов на производные от них ассоциации, занимающие различное положение в динамических рядах деградации или восстановления коренных сообществ, а наиболее интенсивные процессы трансформации лесных фитоценозов характерны для зоны вдоль внешнего периметра предприятий (рис. 3). Антропогенное воздействие инициирует в лесах, расположенных в окрестностях предприятий ННПК, сукцессии различной направленности и интенсивности, определяя структуру, динамику и пространственное размещение растительности. Даже на фоне снижения уровня выбросов площади коренных лесов в регионе сократились на 12 % и увеличились пропорционально площади производных, что свидетельствует о продолжающейся смене коренных хвойных лесов на производные от них мелколиственные, более устойчивые к антропогенным воздействиям [8].

Оценка структуры лесных фитоценозов по периметру 500-метровой зоны вокруг предприятий ННПК показала, что здесь лесной покров представляет собой мозаику парцелл различного динамического статуса и генезиса. Общая картина распределения динамических категорий парцелл при удалении от опушек леса и в зависимости от мощности и технологии производств отражены на диаграммах, построенных на основе учета парцелл с 5-летним интервалом, что позволяет определить тренды динамики фитоценозов в период 25-летнего функционирования ННПК (рис. 4).

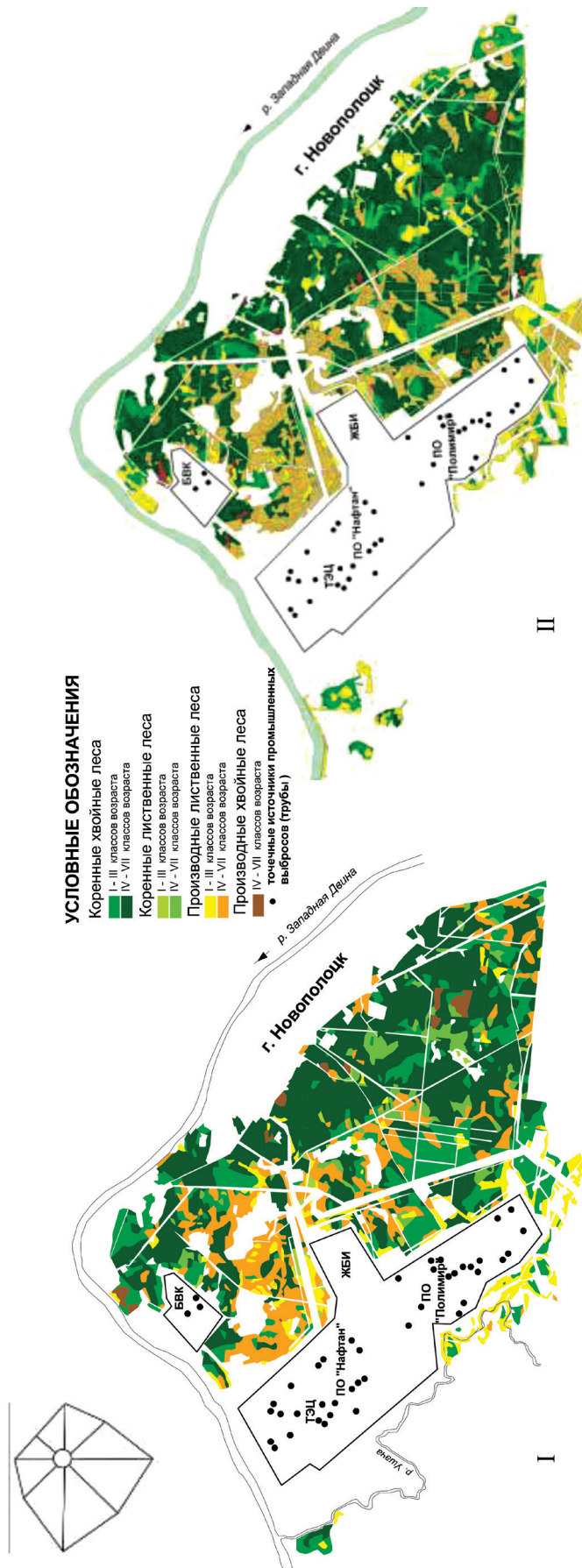


Рис. 3. Размещение лесов различного динамического статуса в буферной зоне НПЗК по материалам инвентаризации I (1993 г.) и II (2005 г.)
 Fig. 3. Locations of different dynamic status forests in the buffer zone of Novopolotsk Refinery based on the inventory materials of I (1993) and II (2005)

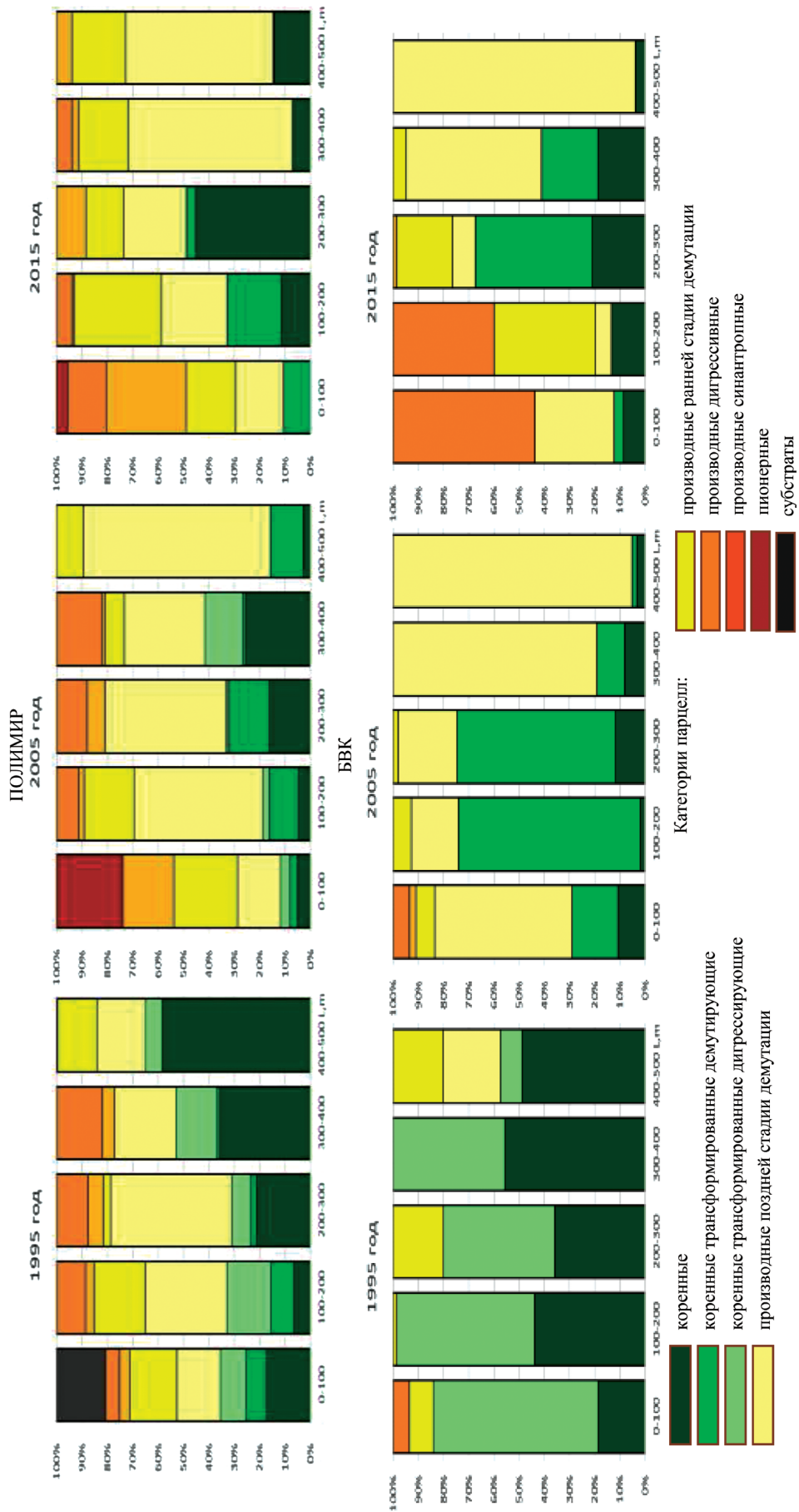


Рис. 4. Вклад различных динамических категорий парцелл в сложении лесных фитоценозов на разном удалении от опушек леса (L), %

Fig. 4. Different dynamic categories of parcels in the composition of forest phytocenoses on different from forest edges (L), %

Возле заводов нефтехимического профиля, запущенных раньше завода БВК и обладающих более активными компонентами выбросов, лесные сообщества преобразованы намного глубже. Здесь участие коренных парцелл к началу исследования составило 43,4 % и в зависимости от расстояния варьировалось от 35 % (на 100-метровом отрезке от опушки леса) до 65 % (на расстоянии 400–500 м). При этом на наиболее приближенных к заводам отрезках трансект доля собственно коренных парцелл составила 17 %: преобладают коренные трансформированные дигрессивные (10 %) и производные (45 %). С удалением от лесной опушки отмечается увеличение доли коренных парцелл, особенно на расстоянии 300–500 м. На наиболее удаленных участках вклад собственно коренных парцелл возрастает до 59 % и, соответственно, снижается доля парцелл дигрессивной сукцессии.

Что касается завода БВК, то здесь наблюдается иная картина. Расположенные тут лесные сообщества испытывают двухсторонний техногенный пресс. В связи с этим зависимости соотношения коренных и производных парцелл от расстояния в этом случае не прослеживается. Доля коренных парцелл значительно больше, чем на трансектах у предприятий ПО «Полимир», и составляет в среднем 84 %. Меньшая степень трансформированности коренной растительности у завода БВК объясняется значительно более низкой мощностью эмиссий этого предприятия. Большая деградация сообществ на более удаленном отрезке, является результатом влияния предприятий ПО «Нафтан» и ТЭЦ, объемы выбросов которых значительно превышают мощности завода БВК. Кроме того, воздействие эмиссий этих предприятий на удаленные от завода БВК участки оказывалось еще до пуска последнего.

Анализ соотношения различных динамических категорий парцелл в сложении лесных фитоценозов за 25-летний период показал, что на всех трансектах, независимо от расстояния и расположения, значительно сократилась доля всех категорий коренных парцелл (рис. 4, 5). Так, к 2005 г. участие парцелл, сохраняющих облик и отчасти видовой состав коренных, уменьшилось почти в 2 раза и составило 40,4 % в районе воздействия БВК и 24,2 % в окрестности ПО «Полимир» с наибольшим сокращением их доли в непосредственной близости от источников промышленных эмиссий.

До 2005 г. на фоне сокращения объемов выбросов отмечалось преобладание восстановительных процессов независимо от расстояния до источников выбросов, вклад дигрессирующих коренных и производных парцелл существенно сократился. Если в 1990 г. на трансектах у завода БВК присутствие парцелл коренной дигрессивной группы составляло 36–50 %, в 1995 г. – 24–44 %, то к 2000 г. – всего 3–12 % (в зависимости от расстояния). В окрестности ПО «Полимир», соответственно, в 1990 г. – 16–49 %, в 1995 г. – 7–16, к 2000 г. – 0–8 %. Такая же зависимость в динамике наблюдается и в отношении производных дигрессивных парцелл, присутствие которых к 2000 г. сохранилось лишь у опушек леса и на участках, подвергнутых прямому антропогенному воздействию (тропы, дороги, каналы).

Демутационные процессы на значительной территории сопровождались распадом полога малины (*Rubus idaeus*), формированием покрова из коренных трав и кустарничков. Широкое распространение получили микрогруппировки с доминированием майника двулистного (*Majanthemum bifolium*) и седмичника европейского (*Trientalis europaea*), особенно на трансектах 1, 2 и 5, где в большей степени сохранились коренные ассоциации ельников. Кроме того, на значительной части площадей наблюдалось массовое подселение подроста ели в сочетании с активным возобновлением мелколиственных пород и формированием подлеска из рябины (*Sorbus aucuparia*) и крушины (*Frangula alnus*). На некоторых участках отмечалось восстановление коренной растительности путем формирования елового древесного яруса из групп подроста в «окнах», а также за счет уменьшения площади «окон» в результате разрастания крон деревьев по периметру и включения части площади в приграничные парцеллы с развитым пологом древостоя. Даже вдоль опушек линии обводного канала отмечено активное восстановление лесной растительности: со стороны дороги – мелколиственными породами из осины (*Populus tremula*) и ольхи серой (*Alnus incana*), со стороны леса – из березы повислой (*Betula pendula*) и сосны (*Pinus sylvestris*).

Исследуемые ассоциации буферной зоны ННПК отличает высокая видовая насыщенность нижних ярусов растительности, что свидетельствует о сложной дифференциации лесных ценозов

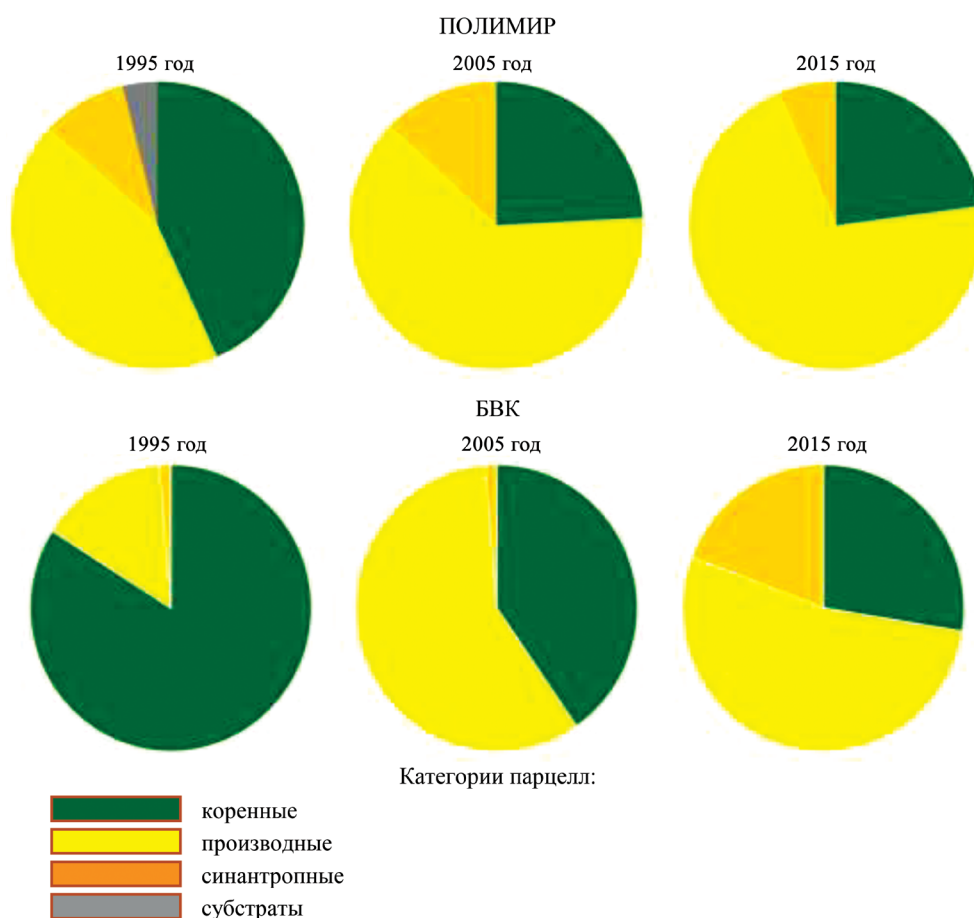


Рис. 5. Вклад различных категорий парцелл в сложении лесных фитоценозов у завода «Полимир» и БВК в период 1995–2015 гг., %

Fig. 5. Different categories of parcels in the composition of forest phytocenoses at the Polimir and BVK Plants in the period 1995–2015, %

этой территории. И чем больше степень их нарушенности, тем шире представлены различные по экологии виды в напочвенном покрове за счет инвазии растений, не характерных для данных мест обитания. При этом трансформация естественной растительности сводится в основном к увеличению доли проективного покрытия нитрофильных видов и в первую очередь малины, которая встречается во всех ассоциациях. Исключение составляет ассоциация сосняка сфагново-черничного, трансформация которого выражается в увеличении доли тростника обыкновенного (*Phragmites australis*). Кроме того, в результате нарушенности сообществ напочвенный покров обогатился видами, довольно обычными для процессов, сопровождающих различного рода несплошные рубки леса, строительство дорог и других коммуникаций в лесу, а также зарастание участков с уничтоженной лесной растительностью: полынью обыкновенной (*Artemisia vulgaris*), звездчаткой средней (*Stellaria media*), пикульником обыкновенным (*Galeopsis tetrahit*), луговиком дернистым (*Deschampsia cespitosa*), донником белым (*Melilotus albus*), лютиком ползучим (*Ranunculus repens*), осотом полевым (*Sonchus arvensis*), пижмой обыкновенной (*Tanacetum vulgare*) и др.

В некоторых сообществах мозаичность структурной организации напочвенного покрова осложняется и обогащается видами, связанными с элементами ветровально-почвенного комплекса (ветровальными буграми с группой опушечных видов, западинами с доминированием пионерных видов), повышениями и понижениями микрорельефа: проточными депрессиями, с которыми связаны неморальные виды, и приствольными повышениями с приуроченной к ним бореальной группой видов. Участие этих видов напочвенного покрова определяется пространственной структурой нарушений и выраженностью микрорельефа и в зависимости от степени присутствия того или иного фактора может значительно менять соотношение видов различных фитоценологических групп.

По мере прохождения сукцессии видовая насыщенность живого напочвенного покрова сначала увеличивается, достигая максимальной численности в производных ассоциациях с признаками демутиационных процессов, где создаются благоприятные условия для сосуществования растений, принадлежащих к разным экологическим спектрам, а затем падает. В производных ассоциациях с признаками деградации выявлена тенденция к сокращению количества видов лесной и лесолуговой групп при значительном увеличении доли луговой и сорной. При этом наблюдается общее ослабление доминирования отдельных лесных видов. Участие лесных видов в сложении антропогенно-трансформированных участков определяется, как правило, степенью, сроками, масштабом и видом (канал, канава, дорога, тропа) антропогенной нагрузки на данный участок, исходным типом леса и видовым составом примыкающих сообществ [9].

Основу большинства описанных трансформаций составляют так называемый опушечный эффект и прямой антропопрессинг, связанный с функционированием прилегающих предприятий. В результате здесь образовалась сеть лесных дорог, тропинок и канав, занимающая от 0,2 до 4,2 % от площади трансектов, и территория, сформированная в результате строительства обводного канала – 8,9–14,5 %. Общая трансформированная площадь составляет 7,5 % от площади трансектов.

В целом такая тенденция отмечена и в последующий период наблюдений 2005–2015 гг. на фоне незначительного увеличения объемов выбросов (см. рис. 4, 5). К 2015 г. значительную долю составляют парцеллы с участием елового подроста (производные поздней стадии демутации). Однако при общем фоне восстановительных процессов на значительной части площадей идет интенсивный процесс разрушения коренных группировок растительности, распространившийся в глубь лесного массива на 500 м.

Прерывание процесса формирования коренной структуры растительности и возвращение ее на более ранние стадии демутиационного цикла происходит чаще всего именно через образование «окон». Если доля «окон» с 1990 по 2005 г. увеличилась у ПО «Полимир» на 11,1 %, у завода БВК – на 13,0 %, то к 2015 г. их доля в сложении фитоценозов увеличилась еще на 1,1 и 5,8 % соответственно и составила у ПО «Полимир» 23,4 % от площади трансекта, у завода БВК – 23,1 % (табл. 1).

Анализ отпада деревьев по численности и запасу показал, что в 500-метровой зоне имел место повышенный отпад [10]. И хотя основная масса отпада пришлась на тонкомерные особи, в ряде обследованных сообществ отмечено усыхание деревьев из господствующего полога (как правило, в сосняках и ельниках), что является следствием пониженной устойчивости высоковозрастных хвойных древостоев к неблагоприятному экзогенному воздействию.

Уменьшение площади коренных парцелл на протяжении всей длины трансектов, лесная растительность которых формируется в условиях относительно мягкого в сравнении с 1980-ми годами воздействия выбросов, скорее всего, является результатом последствий комплексного негативного воздействия. С одной стороны, происходит «отдаленная» реакция древостоя на постепенное ухудшение состояния среды из-за техногенного воздействия, в результате чего понижается устойчивость древесного яруса, с другой стороны, накладываются аномальные погодноклиматические условия (засухи 1994–1997, 1999, 2002, 2007, 2015 гг., ураганные ветры, снеголомы) и повышается вероятность гибели деревьев. В работе А. В. Пугачевского [11] отмечается, что высокая роль экстремальных воздействий экзогенного происхождения может стать причиной массового (вплоть до тотального) отпада взрослых елей и, как следствие, существенных дигрессивно-демутиационных сукцессий.

Утрата древостоем эдификаторной роли, как правило, ведет к распаду системы фитоценологических связей в лесных сообществах, к разрушению и замене растительных группировок нижних ярусов другими, обладающими иной фитоценологической организацией и адаптированными к новой обстановке. С 2005 г. даже в условиях ослабленной конкуренции со стороны древостоя пионерные и производные дигрессирующие парцеллы с доминированием синантропных и нитрофильных компонентов составляли незначительную долю в организации «окон». Чаще на месте разрушающихся коренных парцелл формировались производные парцеллы ранних или даже поздних стадий демутации (елово-черничная, елово-майниково-кисличная, рябино-елово-черничная и т. д.). Таким образом, динамика парцелл сразу возвращалась в русло демутиационного процесса, минуя фазы пионерных группировок. Дигрессивные процессы наиболее выражены на участках со значительными размерами «окон» и несформированным ярусом подроста.

Т а б л и ц а 1. Доля «окон» в сложении фитоценозов на трансектах и вклад парцелл различного динамического статуса в «окнах»

Table 1. Percentage of gaps in the composition of phytocenoses on transects and the contribution of parcels of different dynamic status in gaps

№ трансекта	Динамический статус парцелл в «окнах»	Доля «окон» от общей площади трансекта, %					
		1990 г.	1995 г.	2000 г.	2005 г.	2010 г.	2015 г.
1	ПД	2,1	2,8	2,3	0,9	2,7	10,2
	ПРДм	0,4	0,4	4,4	12,0	0,9	3,4
	ППДм	0,1	1,6	7,1	4,3	21,9	16,7
	КН	–	–	–	–	2,7	–
	Итого	2,7	4,9	13,8	17,2	28,2	30,2
2	ПД	12,0	6,6	4,6	9,1	1,5	Не оценивалась
	ПРДм	2,7	6,5	4,7	4,5	5,1	
	ППДм	–	1,0	5,5	5,4	13,9	
	Итого	14,7	14,1	14,8	19,0	20,5	
3	КН	–	–	–	1,5	0,4	–
	ПД	–	–	–	1,7	3,6	5,8
	ПРДм	–	–	–	0,4	–	5,6
	ППДм	–	2,4	1,5	11,0	14,3	5,2
	Итого	–	2,4	1,5	14,6	18,3	16,6
	Итого у завода «Полимир»	5,8	7,1	10,0	16,9	22,3	23,4
4	КН	–	–	–	1,0	–	Не оценивалась
	ПД	2,8	1,3	3,1	4,0	7,7	
	ПРДм	13,6	6,5	14,0	3,4	5,1	
	ППДм	0,7	2,4	5,2	10,5	16,8	
	Итого	17,1	10,2	22,3	18,9	29,6	
5	ПД	–	–	–	0,5	1,3	0,3
	ПРДм	–	–	4,3	1,5	3,8	12,8
	ППДм	–	–	8,1	22,3	14,0	10,1
	Итого	–	–	12,4	24,3	19,2	23,1
	Итого у завода БВК	8,6	5,1	17,4	21,6	24,4	

П р и м е ч а н и е. Статус парцелл: ПД – производные дигрессирующие, КН – коренные нарушенные, ПРДм – производные ранних стадий демуляции, ППДм – производные поздних стадий демуляции.

Сохранность парцеллярной структуры в сложении трансектов, развивающихся в одинаковых условиях техногенного влияния, различно в силу генетических особенностей, разного возраста и степени трансформированности леса в недавнем прошлом. Для анализа этих процессов данные были сгруппированы по участкам леса, развивающимся на базе одинаковых лесных формаций. Деградикация сообществ в форме распада древесного яруса более выражена в хвойных насаждениях (табл. 2). В насаждениях мелколиственных пород отпад древесных пород из основного полога происходит также за счет сосны, ели и частично березы повислой.

Т а б л и ц а 2. Распределение площади «окон» в сложении лесных формаций на трансектах за период 1990–2015 гг., %

Table 2. Distribution of gaps in the composition of forest formations on transects over the period of 1990–2015, %

Год	Формация					
	ельников	сосняков	березняков	осинников	сероольшаников	черноольшаников
1990	7,6	16,9	5,0	0,0	4,8	0,0
1995	10,7	9,6	6,0	0,0	0,0	12,3
2000	19,4	18,8	11,6	0,0	0,0	9,0
2005	42,1	25,4	12,2	4,6	0,5	0,0
2010	29,3	21,2	16,1	17,0	3,9	6,8
2015	28,6	19,7	15,8	16,9	4,0	–

К 2015 г. разрушение коренных парцелл в той или иной степени коснулось практически всех ассоциаций и увеличилось главным образом за счет тех участков, которые до этого периода проявляли устойчивость. Но по-прежнему значительные площади «окон» образовывались за счет высоковозрастных ельников. Так, доля «окон» в сложении ельников к 2015 г. составила: в молиниевочно-черничной – 59 % от площади ассоциации, в березово-майничково-черничной – 45, в березово-чернично-кисличной – 41, в чернично-кисличной – 39, в малинового-кисличной – 35, в березово-черничной – 17 %. В меньшей степени формирование новых «окон» отмечено в производных березняках, осинниках и сероольшаниках. Эти сообщества представлены производными парцеллами, среди которых велика доля парцелл поздних стадий демутиации с господством ели в подросте и/или во втором ярусе древостоя.

Выводы

По результатам 25-летнего мониторинга лесов буферной зоны ННПК следует отметить следующее:

1. Антропогенное (техногенное) воздействие на лесные биогеоценозы вокруг предприятий ННПК вызывает существенную перестройку фитоценотической организации растительных сообществ, обуславливая изменения их структуры и пространственного распределения. Направленность и темпы смены одних растительных группировок другими зависят от исходного состояния растений, видовой и возрастной структуры сообществ, различий в условиях их произрастания и своеобразия факторов окружающей среды, а также от состава, концентрации и продолжительности действия эмиссий, выбрасываемых в атмосферу.

2. Дигрессивно-демутационные процессы напоминают ход сукцессий, имеющих место в нарушенных природных лесах. Результатом антропогенного воздействия является увеличение скорости элементарных процессов смены одних компонентов растительности другими, что выражается в увеличении мелкоконтурности парцелл и отражается на соотношении парцелл различного динамического статуса и генезиса в сложении исследуемых ассоциаций, как правило, в сторону увеличения производных.

3. За 25-летний период площадь коренных фрагментов лесов в 500-метровой зоне воздействия ННПК сократилась в 2,6 раза. Отмечается смена коренных сосняков и ельников на производные в результате пролонгированного распада фрагментов расстроенных ранее древостоев, что является отдаленной реакцией на продолжительное техногенное воздействие и высокую частоту экстремальных погодноклиматических ситуаций (засухи, ураганные ветры, снеголомы, экстремальные летние и зимние температуры) в последние десятилетия. Отклик растительности на снижение в 1990-е годы техногенного пресса проявился в активных демутиационных преобразованиях нижних ярусов, которые имели место вплоть до 2015 г., что свидетельствует о сохранности потенциала лесных экосистем к регенерации состава и структуры.

Список использованных источников

1. Трансфармацыя лясной расліннасці ў буфернай зоне Наваполацкага прамысловага комплексу / А. І. Лучкоў [і інш.] // Вес. АН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1995. – № 3. – С. 13–14.
2. Дылис, Н. В. Основы биогеоценологии / Н. В. Дылис. – М. : Изд-во МГУ, 1978. – 151 с.
3. Ефимова, О. Е. Опыт оценки динамики земельного фонда и природной растительности на основе анализа картографической информации (на примере Новополоцкого промышленного комплекса) / О. Е. Ефимова, А. В. Пугачевский // Маніторынг і ацэнка стану расліннага покрыва : матэрыялы Міжнар. навук.-практ. канф., 28–31 кастр. 2003 г. / НАН Беларусі [і інш.]. – Минск, 2003. – С. 53–55.
4. Состояние растительности и характеристика трендов сукцессионной динамики лесных фитоценозов в условиях техногенной среды / И. П. Вознячук [и др.] // Маніторынг і ацэнка стану расліннага покрыва : матэрыялы Міжнар. навук.-практ. канф., 28–31 кастр. 2003 г. / НАН Беларусі [і інш.]. – Минск, 2003. – С. 117–119.
5. Вознячук, И. П. Структура и динамика нижних ярусов лесной растительности в условиях интенсивного техногенного воздействия (на примере Новополоцкого промрайона) : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05, 03.00.16 / И. П. Вознячук ; ГНУ«ИЭБ НАНБ». – Минск, 2005. – 23 с.
6. Динамика состояния и загрязнения лесов в зоне воздействия Новополоцкого нефтепромышленного комплекса в 1992–2007 гг. / А. В. Судник [и др.] // Маніторынг і ацэнка стану расліннага покрыва : матэрыялы Міжнар. навук.

канф., прысв. 80-годдзю НАН Беларусі (Мінск – Нарач, 22–26 верас. 2008 г.) / НАН Беларусі [і інш.]. – Мінск, 2008. – С. 359–361.

7. Вознячук, И. П. Изменение видовой насыщенности живого напочвенного покрова при различном световом режиме под пологом леса в условиях антропогенного воздействия / И. П. Вознячук, Н. Л. Вознячук, А. В. Судник // Природ. ресурсы. – 2005. – № 4. – С. 119–123.

8. Вознячук, И. П. Структурно-динамические признаки современного состояния лесного массива по отношению к Новополоцкому промышленному центру / И. П. Вознячук, Н. Л. Вознячук // Тр. БГТУ. Сер. 1. Лес. хоз-во. – 2009. – Вып. 17. – С. 250–254.

9. Особенности формирования видового состава нижних ярусов растительности по мере прохождения сукцессий лесных сообществ в условиях интенсивного антропогенного воздействия / И. П. Вознячук [и др.] // Вест. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2007. – № 1. – С. 22–27.

10. Моложавский, А. А. Состояние и особенности формирования древостоев в условиях интенсивного антропогенного воздействия (на примере Новополоцкого промрайона) : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / А. А. Моложавский. – Минск, 2002. – 258 л.

11. Пугачевский, А. В. Ценопопуляции ели: структура, динамика, факторы регуляции / А. В. Пугачевский. – Минск : Навука і тэхніка, 1992. – 206 с.

References

1. Luchkou A. I., Pugachevskii A. V., Vasil'kevich I. G., Voznyachuk I. P. Transformation of forest vegetation in the buffer zone of the Novopolotsk refinery complex. *Vestsi Akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk* [Proceedings of the Academy of Sciences of Belarus. Biological series], 1995, no. 3, pp. 13–14 (in Belarusian).

2. Dilis N. V. *Fundamentals of biogeocenology*. Moscow, Moscow State University Publishing House, 1978. 151 p. (in Russian).

3. Efimova O. E., Pugachevskii A. V. Experience in estimation of the land fund and natural vegetation dynamics on the basis of cartographic information analysis (on the example of the Novopolotsk industrial complex. *Manitoryng i atsenka stanu raslinnaga pokryva: materyaly Mizhnarodnai navukova-praktychnai kanferentsyi (Minsk, 28–31 kastychnika 2003 goda)* [Monitoring i evaluation of vegetation: Proceedings of the International scientific-practical conference (Minsk, 28–31 October 2003)]. Minsk, 2003, pp. 53–55 (in Russian).

4. Voznyachuk I. P., Voznyachuk N. L., Molozhavsckii A. A., Pugachevskii A. V. Vegetation state and characteristic of successional dynamics of forest phytocenoses in technogenic environment. *Manitoryng i atsenka stanu raslinnaga pokryva: materyaly Mizhnarodnai navukova-praktychnai kanferentsyi (Minsk, 28–31 kastychnika 2003 goda)* [Monitoring i evaluation of vegetation: Proceedings of the International scientific-practical conference (Minsk, 28–31 October 2003)]. Minsk, 2003, pp. 117–119 (in Russian).

5. Voznyachuk I. P. *Structure and dynamics of the lower storeys of forest vegetation under intensive anthropogenic impact (on the example of Novopolotsk industrial district)*. Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 2005. 23 p. (in Russian).

6. Sudnik A. V., Voznyachuk I. P., Molozhavsckii A. A., Pugachevskii A. V., Vershetskaya I. N. Dynamics of the state and pollution of forests in the impact zone of the Novopolotsk refinery complex in 1992–2007. *Manitoryng i atsenka stanu raslinnaga svetu: materyaly Mizhnarodnai navukovai kanferentsyi, prysvechanai 80-goddzyu Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi (Minsk – Narach, 22–26 verasnya 2008 goda)* [Vegetation monitoring and assessment: Materials of the International scientific conference dedicated to the 80th anniversary of the National Academy of Sciences of Belarus (Minsk – Narach, 22–26 September 2008)]. Minsk, 2008, pp. 359–361 (in Russian).

7. Voznyachuk I. P., Voznyachuk N. L., Sudnik A. V. Changes in the species saturation of living soil cover with different light conditions under forest canopy with anthropogenic impact. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2005, no. 4, pp. 119–123 (in Russian).

8. Voznyachuk I. P., Voznyachuk N. L. Structural-dynamic characteristics of current state of the forests of the Novopolotsk industrial center. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya 1. Lesnoe khozyaistvo* [Proceedings of the Belarusian State Technological University. Series 1. Forestry], 2009, iss. 17, pp. 250–254 (in Russian).

9. Voznyachuk I. P., Dmitrieva S. A., Ermolenkova G. V., Davidchik T. O. Peculiarities of formation of the species composition of the vegetation understory in the process of succession of forest communities under the intensive anthropogenic impact. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2007, no. 1, pp. 22–27 (in Russian).

10. Molozhavsckii A. A. *State and peculiarities of forest stand under intensive anthropogenic impact (on the example of Novopolotsk industrial district)*. Ph. D. diss. Minsk, 2002. 258 p. (in Russian).

11. Pugachevskii A. V. *Cenopopulation of spruce: structure, dynamics, factors of regulation*. Minsk, Navuka i tekhnika Publ., 1992. 206 p. (in Russian).

Информация об авторах

Вознячук Ирина Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларусі (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ipv@tut.by

Information about the authors

Irina P. Voznyachuk – D. Sc. (Biol.), Leading 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: ipv@tut.by

Моложавский Анатолий Александрович – канд. биол. наук, заместитель председателя. Белорусское общество охотников и рыболовов (пер. Калинина, 16, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: malazhavskiaa@mail.ru

Судник Александр Владимирович – канд. биол. наук, заведующий сектором. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: asudnik@tut.by

Вознячук Николай Леонидович – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nlv@tut.by

Anatoli A. Malazhavski – D. Sc. (Biol.), Vice-chairman. Belarusian Society of Hunters and Fishermen (16, Kalinin lane, 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: malazhavskiaa@mail.ru

Aliaksandr V. Sudnik – D. Sc. (Biol.), Head of the Sector. 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: asudnik@tut.by

Nikolai L. Voznyachuk – 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: nlv@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 591.69:582.282.168.3:595.771(476)(282)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-43-49>

Поступила в редакцию 22.07.2019

Received 22.07.2019

Д. В. Довнар¹, Е. Н. Янковская², Д. В. Войтка², О. Ю. Баранов³,
В. М. Каплич⁴, А. В. Кантерова⁵

¹Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь

²Институт защиты растений НАН Беларуси, аг. Прилуки, Минский район, Республика Беларусь

³Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

⁴Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

⁵Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

РЕГИСТРАЦИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО МИКРОМИЦЕТА *CORDYCEPS* SP. В КРОВСОСУЩИХ МОШКАХ *WILHELMIA EQUINA* (LINNAEUS, 1758)

Аннотация. Из пораженных личинок кровососущих мошек *Wilhelmia equina* (Linnaeus, 1758), собранных на территории Лепельского района Витебской области в р. Эсса в июле 2018 г., выделен энтомопатогенный гриб рода *Cordyceps*. Изолят идентифицировали с использованием культурально-морфологических и молекулярно-генетических методов.

В опытах *in vitro* проведена сравнительная оценка биологической активности выделенного штамма *Cordyceps* sp. BGTU и штамма *Beauveria bassiana* 10-06 в отношении личинок старших возрастов кровососущих мошек *W. equina*. Использовали две концентрации – 1·10⁶ и 1·10⁷ конидий/мл. На 3-и сутки инкубации оба гриба вызвали значительное повышение уровня смертности у тест-объектов ($p = 0,03$) по сравнению с контролем. Биологическая эффективность концентрации 10⁷ конидий/мл штамма *Beauveria bassiana* 10-06 на 3-и сутки составила 94,4 %, на 4-е – 98,3 %, штамма *Cordyceps* sp. – 76,0 и 88,9 % соответственно.

Ключевые слова: энтомопатогенные грибы, аскомицеты (Ascomycetes), Simuliidae, Cordycipitaceae, *Isaria*, *Beauveria bassiana*, биологическая эффективность

Для цитирования: Регистрация энтомопатогенного микромицета *Cordyceps* sp. в кровососущих мошках *Wilhelmia equina* (Linnaeus, 1758) / Д. В. Довнар [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 43–49. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-43-49>

Darya V. Dovnar¹, Elena N. Yankovskaya², Dmitry V. Voitka², Oleg Yu. Baranov³,
Valeriy M. Kaplich⁴, Hanna V. Kanterova⁵

¹Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Plant Protection of the National Academy of Sciences of Belarus, a/c Priluki, Minsk District,
Republic of Belarus

³Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

⁴Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

⁵Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

REGISTRATION OF ENTOMOPATOGENIC MICROMYCETE *CORDYCEPS* SP. IN BLOODSUCKING BLACKFLIES *WILHELMIA EQUINA* (LINNAEUS, 1758)

Abstract. An entomopathogenic fungi belonging to the genus *Cordyceps* was isolated from the affected larvae of the bloodsucking blackflies *Wilhelmia equina* (Linnaeus, 1758). Larval stage of Simulium were collected on the territory of the Lepel district of the Vitebsk region in the river Essa in July 2018. Isolate was identified using cultural-morphological and molecular-genetic methods.

In vitro experiments comparative evaluation of biological activity of isolated strain *Cordyceps* sp. and *Beauveria bassiana* 10-06 was carried out for 3rd instar larvae of *W. equina*. Two different concentrations 1·10⁶ and 1·10⁷ conidia/ml were made and tested in 3 replications. On the 3rd day of incubation both fungi caused a significant mortality of test-objects ($p = 0.03$) compared to control. The biological efficiency of the concentration of 10⁷ conidia/ml of the strain *Beauveria bassiana* 10-06 on the 3rd day was 94.4 %, on the 4th – 98.3 %, of the strain *Cordyceps* sp. – 76.0 and 88.9 % respectively.

Keywords: entomopathogenic fungi, Ascomycetes, Simuliidae, Cordycipitaceae, *Isaria*, *Beauveria bassiana*, biological efficiency

For citation: Dovnar D. V., Yankovskaya E. N., Voitka D. V., Baranov O. Yu., Kaplich V. M., Kanterova H. V. Registration of entomopathogenic micromycete *Cordyceps* sp. in bloodsucking blackflies *Wilhelmia equina* (Linnaeus, 1758). *Vestsi Natsyonal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 43–49 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-43-49>

Введение. Мошки сем. Simuliidae представляют собой угрозу для здоровья человека и животных. Их укусы могут спровоцировать возникновение аллергической реакции, вызвать боль и раздражение. Слюна мошек очень токсична и вызывает такое самостоятельное заболевание, как симулиидотоксикоз. Вред от мошек усугубляется и тем, что они являются переносчиками возбудителей ряда заболеваний: онхоцеркозов крупного рогатого скота, оленей и человека; гемоспоридиозов птиц; анаплазмоза; туляремии; лихорадки Западного Нила и др. [1, 2].

Для защиты от симулиид используется не только химический метод, но и экологически безопасный и безвредный для человека микробиологический метод, основанный на использовании энтомопатогенных микроорганизмов, среди которых важная роль отводится энтомопатогенным грибам, которые способны поражать широкий спектр насекомых-хозяев на разных стадиях развития, распространяться в популяции насекомых, приводя к сокращению их численности [3–5].

В настоящее время известно более 700 видов грибов [6], способных поражать насекомых и клещей. Спектр перспективных энтомопатогенных микроорганизмов постоянно расширяется.

У мошек паразитируют представители грибов и грибоподобных организмов классов Аскомицеты, Хитридиомицеты, Гифомицеты, Трихомицеты, Зигомицеты и Оомицеты [7–10]. *Tolypodium inflatum* W. Gams (1971) и *Entomophthora lairdii* Maff & Nolan (1977) обладают избирательным действием и значительной инфекционностью по отношению к мошкам и рекомендованы для производства микоинсектицидных препаратов [11, 12].

Цель настоящей работы – изучение патогенной микобиоты личинок кровососущих мошек, морфологическая и молекулярно-генетическая идентификация выделенного изолята энтомопатогенного гриба и оценка его активности в отношении кровососущих мошек сем. Simuliidae как потенциального микробиологического агента контроля численности кровососов.

Материалы и методы исследования. Сборы преимагинальных фаз мошек осуществляли, используя стандартные методы – ручной сбор из водотоков [13, 14]. Температура воды в водотоке во время сбора преимагинальных фаз симулиид составляла 18–19 °С. Видовую идентификацию симулиид проводили по И. А. Рубцову [13], А. В. Янковскому [15] и В. М. Капличу с соавт. [16]. Выделение чистой мицелиальной культуры и ее идентификацию до уровня рода выполнены по методике Э. З. Коваль [17] и Н. П. Кутафьевой [7]. Молекулярно-таксономическая идентификация изолята микромицета проводилась на основании секвенирования региона рДНК, содержащего локусы 18S рРНК (фрагмент), ВТС1, 5.8SpРНК, ВТС2, 28SpРНК (фрагмент), и последующего сравнения полученных нуклеотидных последовательностей с депонентами международной базы данных Gene Bank NCBI [18, 19].

Измерение морфологических структур осуществляли при помощи микроскопа Zeiss Axio Imager.A1. Фотофиксацию объектов производили цифровой камерой AxioCam MRc с увеличением микроскопа 10×40, 15×40.

В условиях *in vitro* определяли биологическую эффективность выделенного из личинок мошек изолята энтомопатогенного микромицета и штамма *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 10-06, являющегося основой коммерческого препарата Melobass®, коллекционного фонда РУП «Институт защиты растений».

Энтомопатогенные грибы культивировали на орбитальном шейкере IKA®KS 260 basic в колбах объемом 750 мл при температуре 26 °С и скоростью вращения качалки 200 об/мин в течение 72 ч на питательной среде следующего состава (%): меласса – 2,0; глицерин – 2,0; пептон – 2,0; NaNO₃ – 0,1; MgSO₄ – 0,1; K₂HPO₄ – 0,1; вода водопроводная – до 100. Количество спор определяли с помощью гемоцитометра (камеры Горяева).

Личинок мошек отбирали в водотоках, вместе с субстратом помещали в емкости, заполненные речной водой, и доставляли в лабораторию для исследований. Затем личинок третьего возраста рассаживали по 30 особей в химические стаканы с 400 мл воды, отобранной из мест обитания мошек. Для аэрации использовали микрокомпрессоры Varbus Air 002 с интенсивностью аэрации до 210 л/ч.

Биологическую эффективность микромицетов рассчитывали по формуле Хендерсона–Тилтона [20].

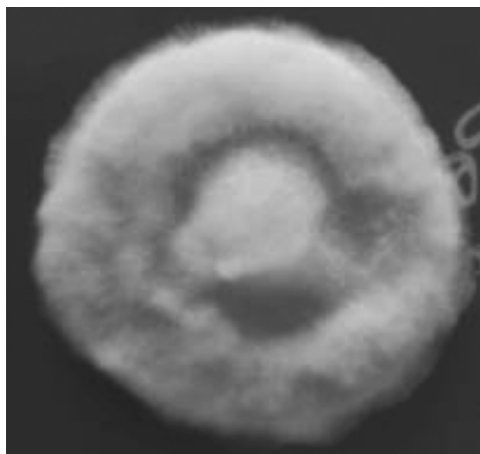


Рис. 1. Колонии гриба на 10-е сутки
Fig. 1. Fungus colonies on the 10th day



Рис. 2. Реверзум колоний гриба на 10-е сутки
Fig. 2. Reversum colonies on the 10th day



Рис. 3. Конидиеносцы. ×400
Fig. 3. Conidiophore. ×400

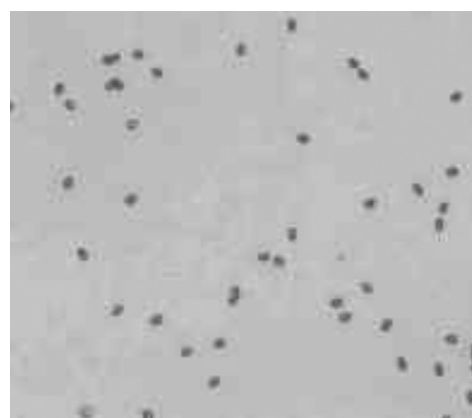


Рис. 4. Конидии. ×600
Fig. 4. Conidia. ×600

Результаты и их обсуждение. Из пораженных личинок кровососущих мошек *Wilhelmia equina* (Linnaeus, 1758), собранных на территории Лепельского района Витебской области в р. Эсса в июле 2018 г., был впервые выделен в чистую культуру изолят гриба, предположительно вызвавшего их гибель. Микроскопическое изучение морфологических характеристик изолята позволило отнести его к роду *Cordyceps* Fr., 1818 (син. *Isaria* Pers ex Fries, 1832) [21]).

Морфологическое описание изолята. Колонии плотные, войлочные, бежевого цвета. Центр колонии выпуклый, далее отмечается зона низкого плотного мицелия. Внешний край колонии представлен высоким ватообразным мицелием (рис. 1). Диаметр колоний на 10-е сутки культивирования достигает 30–36 мм. Центральная часть реверзума рыжеватая, периферическая – от желтого до золотисто-желтого оттенка, в старых колониях приобретает светло-коричневую окраску (рис. 2). Экссудат и запах отсутствуют. Гифы септированные, бесцветные, умеренно ветвящиеся. Ширина скелетных гиф составляет 2,0–2,4 мкм, воздушных – 0,2–0,3 мкм. Конидиеносцы короткие (рис. 3). Конидии овально-эллиптические (рис. 4) размером (2–4)×(3–5) мкм, бесцветные, гладкие, неслизистые, в цепочках длиной 50–80 мкм.

Молекулярно-генетическая идентификация изолята. Анализ результатов секвенирования региона рДНК изолята показал, что изучаемые последовательности ампликонов являются гетерогенными и по ряду позиций представлены одновременно двумя альтернативными вариантами (рис. 5).

Согласно литературным данным, локусы рДНК эукариотических организмов (в том числе и микромицетов) являются мультикопийными и формируют один или несколько кластеров, состоящих

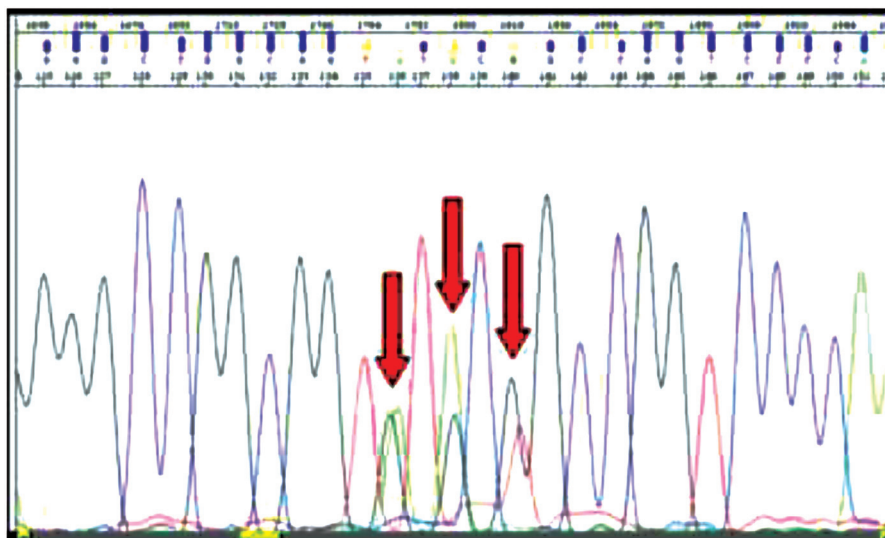


Рис. 5. Нуклеотидная последовательность фрагмента рДНК (стрелками указаны смешанные нуклеотидные позиции)

Fig. 5. Nucleotide sequence of the rDNA fragment (arrows indicate the mixed nucleotide positions)

из последовательно расположенных транскрибируемых единиц. При этом нуклеотидные последовательности паралогичных локусов отдельных индивидов (для негибридогенных видов) вследствие особенностей молекулярно-биологических процессов редактирования рДНК (явление “concerted evolution”), как правило, являются идентичными.

Таким образом, полученные результаты указывают на гибридогенное происхождение изолята *Cordyceps* sp. Сравнительное изучение выявленных гаплотипов локусов рДНК по отдельности в международной базе данных Gene Bank NCBI показало, что один из гаплотипов соответствует (степень идентичности 100 %) депонентам, определяемым как *Isaria farinosa* (син. *Paecilomyces farinosus* или *Cordyceps farinosa*), второй гаплотип идентифицируется как *Cordyceps militaris* (степень идентичности 99 %). Исходя из полученных данных, было выдвинуто предположение о гибридном таксономическом статусе выявленного изолята – *Cordyceps cf. militaris*×*farinosa*. При этом сравнительно одинаковая степень представленности гаплотипов *C. militaris* и *C. farinosa* в геноме изученного изолята *C. cf. militaris*×*farinosa* указывает на относительно недавнее его происхождение. Полученная последовательность была депонирована в международной базе данных GenBank (идентификационный номер MK474613) с обозначением *Cordyceps* sp. isolate BGTU.

На следующем этапе исследований проведена сравнительная оценка биологической эффективности изолята *Cordyceps* sp. BGTU и штамма *Beauveria bassiana* 10-06 на личинках старших возрастов кровососущих мошек *W. equina*. Насекомых заражали водной суспензией с титром $1 \cdot 10^6$ и $1 \cdot 10^7$ конидий/мл в трехкратной повторности. Контролем служили личинки, содержащиеся в речной воде. Гибель личинок отмечали через каждые 24 ч.

Биологическая активность штаммов энтомопатогенных грибов в отношении личинок третьего возраста *W. equina* (Mean ± Sd)

Biological activity of strains of entomopathogenic fungi for 3rd instar larvae *W. equina* (Mean ± Sd)

Время воздействия, ч	Гибель личинок, %				Контроль
	<i>Beauveria bassiana</i> 10-06		<i>Cordyceps</i> sp. BGTU		
	$1 \cdot 10^6$ спор/мл	$1 \cdot 10^7$ спор/мл	$1 \cdot 10^6$ спор/мл	$1 \cdot 10^7$ спор/мл	
24	0,0 ± 0	3,3 ± 2,8	0,0 ± 0	0,0 ± 0	0,0 ± 0
48	6,6 ± 2,8	51,7 ± 25,7	10,0 ± 5,0	31,7 ± 2,9	0,0 ± 0
72	63,3 ± 7,6	95,0 ± 8,7	51,7 ± 13,1	76,7 ± 15,3	5,0 ± 1,3
96	81,7 ± 7,6	100,0 ± 0	78,3 ± 7,6	90,0 ± 8,7	7,2 ± 3,2

Проведенные исследования показали, что в течение первых суток после заражения энтомопатогены не оказали какого-либо значительного влияния на уровень смертности личинок по сравнению с контролем ($p = 0,65$) (см. таблицу). На 3-и сутки инкубации оба гриба вызвали значительное повышение уровня смертности ($p = 0,03$) по сравнению с контролем. Итоговый показатель смертности, зафиксированный на 4-е сутки, для штамма *Beauveria bassiana* составил 100 % при концентрации $1 \cdot 10^7$ спор/мл. Гриб *Cordyceps* sp. BGTU при данной концентрации вызвал смертность 90 % тест-объектов по сравнению с контролем ($p = 0,025$). Сравнительный анализ данных по вирулентности *B. bassiana* и *Cordyceps* sp. BGTU не выявил статистически значимых различий между патогенами ($p = 0,62$).

Заключение. Согласно результатам проведенных исследований, причиной гибели кровососущих мошек сем. Simuliidae от микоза в природных водотоках на территории Беларуси являлся энтомопатогенный гриб *Cordyceps* sp. Оценка в опытах *in vitro* показала, что энтомопатогенные микромицеты проявляют высокую биологическую активность в отношении личинок кровососущих мошек третьего возраста. Биологическая эффективность суспензии штамма *Beauveria bassiana* 10-06 с концентрацией 10^7 спор/мл, рассчитанная по формуле Хендерсона–Тилтона, на 3-и сутки составила 94,4 %, на 4-е – 98,3 %, штамма *Cordyceps* sp. BGTU – 76,0 и 88,9 % соответственно.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта НАН Беларуси № 2019-28-103 от 15 апреля 2019 г.

Acknowledgments. The work was carried out with the financial support of grant of NASB № 2019-28-103 of April 15, 2019.

Список использованных источников

- Каплич, В. М. Мошки (Diptera, Simuliidae) – магчымыя носыбіты ўзбуджальніка анаплазмозу буйной рагатай жывелы / В. М. Каплич // Вес. АН БССР. Сер. біял. навук. – 1985. – № 6. – С. 89–91.
- Самойлова, Т. И. Вирус Западного Нила в Республике Беларусь / Т. И. Самойлова. – Минск : Медисонт, 2018. – 216 с.
- Франц, Й. Биологические методы борьбы с вредителями / Й. Франц, А. Криг ; пер. с нем. И. Н. Заикиной. – М. : Колос, 1984. – 352 с.
- Nadeau, M. P. Larvicidal activity of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium cylindrosporum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on the mosquito *Aedes triseriatus* and the black fly *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae) / M. P. Nadeau, J. L. Boisvert // J. Am. Mosq. Control Assoc. – 1994. – Vol. 10, N 4. – P. 487–491.
- Lacey, L. A. Microbial Control of Black Flies and Mosquitoes / L. A. Lacey, A. H. Undeen // Ann. Rev. Entomol. – 1986. – Vol. 31, N 1. – P. 265–296. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.31.1.265>
- Abdel Ghany, T. M. Entomopathogenic fungus and their role in biological control / T. M. AbdelGhany. – Foster City : OMICS Group eBooks, 2015. – 46 p.
- Кутафьева, Н. П. Морфология грибов : учеб. пособие / Н. П. Кутафьева. – 2-е изд., испр. и доп. – Новосибирск : Сибир. универ. изд-во, 2003. – 215 с.
- Каплич, В. М. Паразиты мошек (Diptera, Simuliidae) в водотоках Восточно-Европейского Полесья / В. М. Каплич, Е. Б. Сухомлин, А. П. Зинченко // Тр. БГТУ. Сер. 1, Лесное хозяйство. – 2009. – Вып. 17. – С. 267–270.
- Adler, P. H. Black Flies (Simuliidae) of North America / P. H. Adler, D. C. Currie, D. M. Wood. – New York : Cornell University Press, 2004. – 942 p.
- Parasites of larval black flies (Diptera: Simuliidae) in Thailand / S. Jitklang [et al.] // Songklanakarin J. Sci. Technol. – 2012. – Vol. 34, iss. 6. – P. 597–599.
- Matha, V. The effect of tolypin in *Tolypocladium niveum* crude extract against mosquito and blackfly larvae in the laboratory / V. Matha, J. Weiser, J. Olejnicek // Folia Parasitol. (Praha). – 1988. – Vol. 35, iss. 4. – P. 379–381.
- Штамм энтомопатогенного гриба *Entomophthora lairdii* n. sp. : пат. 589700 СССР : МПК7 A01N15C12K1 (1976) / Э. А. Нам, А. М. Дубицкий, Н. Г. Левченко, О. Г. Саубенова ; дата публ.: 11.09.1978.
- Рубцов, И. А. Мошки (сем. Simuliidae). Фауна СССР Насекомые двукрылые / И. А. Рубцов. – М. ; Л. : Наука, 1956. – 860 с.
- Каплич, В. М. Кровососущие мошки лесной зоны / В. М. Каплич, З. В. Усова. – Минск : Ураджай, 1990. – 176 с.
- Янковский, А. В. Определитель мошек (Diptera, Simuliidae) России и сопредельных территорий (бывшего СССР) / А. В. Янковский. – СПб. : Зоол. ин-т Рос. акад. наук, 2002. – 570 с.
- Каплич, В. М. Мошки (Diptera, Simuliidae) смешанных лесов Европы / В. М. Каплич, Е. Б. Сухомлин, А. П. Зинченко. – Минск : Новое знание, 2015. – 464 с.
- Коваль, Э. З. Определитель энтомопатогенных грибов СССР / Э. З. Коваль. – Киев : Наук. думка, 1974. – 260 с.
- White, T. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T. White [et al.] // PCR protocols: a guide to methods and applications / ed.: M. A. Innis [et al.]. – San Diego, 1990. – P. 315–322.

19. National Center for Biotechnological Information, NCBI [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. – Date of access : 10.12.2018.

20. Henderson, C. F. Tests with acaricides against the brow wheat mite / C. F. Henderson, E. W. Tilton // J. Econ. Entomol. – 1955. – Vol. 48, N 2. – P. 157–161. <https://doi.org/10.1093/jee/48.2.157>

21. A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*) / Kepler R. M. [et al.] // IMA Fungus. – 2017. – Vol. 8, N 2. – P. 335–353. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2017.08.02.08>

References

1. Kaplich V. M. Blackflies (Diptera, Simuliidae) as potential vector of the causative agent of anaplasmosis in cattle. *Vesti Akademii nauk BSSR. Seriya biyagichnykh nauk = Proceedings of the Academy of Sciences of BSSR. Biological series*, 1985, no. 6, pp. 89–91 (in Russian).
2. Samoilova T. I. *West Nile virus in the Republic of Belarus*. Minsk, Medisont Publ., 2018. 216 p. (in Russian).
3. Franz J. M., Krieg A. *Biologische Schädlingsbekämpfung*. Berlin, Hamburg, Paul Parey, 1976. 222 S. (Russ. ed.: Frants Y., Krig A. *Biological pest control*. Moscow, Kolos Publ., 1984. 352 p.).
4. Nadeau M. P., Boisvert J. L. Larvicidal activity of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium cylindrosporum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on the mosquito *Aedes triseriatus* and the black fly *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae). *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1994, vol. 10, no. 4, pp. 487–491.
5. Lacey L. A., Undeen A. H. Microbial control of black flies and mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 1986, vol. 31, no. 1, pp. 265–296. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.31.1.265>
6. Abdel Ghany T. M. *Entomopathogenic fungus and their role in biological control*. Foster City, OMICS Group eBooks, 2015. 46 p.
7. Kutaf'eva N. P. *Morphology of fungi. 2nd ed.* Novosibirsk, Siberian University Publishing House, 2003. 215 p. (in Russian).
8. Kaplich V. M., Sukhomlin E. B., Zinchenko A. P. Parasites of blackflies (Diptera, Simuliidae) in the watercourses of the East European Polesie. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya 1. Lesnoe khozyaistvo* [Proceedings of the Belarusian State Technological University. Series 1. Forestry.], 2009, iss. 17, pp. 267–270 (in Russian).
9. Adler P. H., Currie D. C., Wood D. M. *Black flies (Simuliidae) of North America*. New York, Cornell University Press Publ., 2004. 942 p.
10. Jitklang S., Ahantari A., Kuvangkadilok C., Baimai V., Adler P. H. Parasites of larval blackflies (Diptera: Simuliidae) in Thailand. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 2012, vol. 34, no. 6, pp. 597–599.
11. Matha V., Weiser J., Olejníček J. The effect of tolypin in *Tolypocladium niveum* crude extract against mosquito and blackfly larvae in the laboratory. *Folia Parasitology* (Praha), 1988, vol. 35, no. 4, pp. 379–381.
12. Nam E. A., Dubitskii A. M., Levchenko N. G., Saubenova O. G. *Strain of entomopathogenic fungus Entomophthora lairdii n. sp.* Patent USSR, no. 589700, 1976 (in Russian).
13. Rubtsov I. A. *Blackflies (fam. Simuliidae). Fauna of the USSR. Insects Diptera*. Moscow, Leningrad, Nauka Publ., 1956. 860 p. (in Russian).
14. Kaplich V. M., Usova S. V. *Bloodsucking blackflies of forest zone*. Minsk, Uradzhai Publ., 1990. 176 p. (in Russian).
15. Yankovsky A. V. *Key of blackflies (Diptera, Simuliidae) of Russia and cross-border region (former Soviet Union)*. St. Petersburg, 2002, Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences. 570 p. (in Russian).
16. Kaplich V. M., Sukhomlin E. B., Zinchenko A. P. *Blackflies (Diptera, Simuliidae) mixed forests of Europe*. Minsk, Novoe znanie Publ., 2015. 464 p. (in Russian).
17. Koval' E. S. *Key of entomopathogenic fungi USSR*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1974. 260 p. (in Russian).
18. White T., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, San Diego, 1990, pp. 315–322.
19. National Center for Biotechnological Information (NCBI). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (accessed 10.12.2018).
20. Henderson C. F., Tilton E. W. Tests with acaricides against the brow wheat mite. *Journal of Economic Entomology*, 1955, vol. 48, no. 2, pp. 157–161. <https://doi.org/10.1093/jee/48.2.157>
21. Kepler R. M., Luangsa-ard J. J., Hywel-Jones N. L., Quandt C. A., Sung G.-H., Rehner S. A. [et al.]. A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). *IMA Fungus*, 2017, vol. 8, no. 2, pp. 335–353. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2017.08.02.08>

Информация об авторах

Довнар Дарья Васильевна – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dovnar.rm@gmail.com

Янковская Елена Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт защиты растений (ул. Мира, 2, 223011, аг. Прилуки, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: biocontrol@tut.by

Information about the authors

Darya V. Dovnar – Junior researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dovnar.rm@gmail.com

Elena N. Yankovskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Institute of Plant Protection (2, Mir Str., 223011, a/c Priluki, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: biocontrol@tut.by

Войтка Дмитрий Владимирович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт защиты растений (ул. Мира, 2, 223011, аг. Прилуки, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: d.voitka@tut.by

Баранов Олег Юрьевич – д-р биол. наук, доцент, заведующий сектором. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: betula-belarus@mail.ru

Каплич Валерий Михайлович – д-р биол. наук, профессор. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kaplichVM@mail.ru

Кантерова Анна Валерьевна – науч. сотрудник. Институт микробиологии (ул. акад. В. Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: microbiol@tut.by

Dmitry V. Voitka – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Plant Protection (2, Mir Str., 223011, a/c Priluki, Minsk District, Republic of Belarus). E-mail: d.voitka@tut.by

Oleg Y. Baranov – D. Sc. (Biol.), Assistant professor, Head of the Department. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: betula-belarus@mail.ru

Valeriy M. Kaplich – D. Sc. (Biol.), Professor. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kaplichVM@mail.ru

Hanna V. Kanterova – Researcher. The Institute of Microbiology (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: microbiol@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 633:581.2:581.19:577.15

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-50-58>

Поступила в редакцию 10.09.2019

Received 10.09.2019

**В. И. Домаш¹, М. А. Белозерский², Я. Е. Дунаевский², О. А. Иванов¹,
Т. П. Шарпио¹, С. А. Забрейко¹, Т. Г. Шабашова¹**

¹*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

²*Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ,
Москва, Российская Федерация*

АНТИФУНГАЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ БЕЛКОВ НЕКОТОРЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Аннотация. Приведены результаты исследований на наличие в семенах бобовых и злаковых культур белковых ингибиторов, активных против протеиназ животного происхождения (трипсина) и экзогенных пептидаз фитопатогенных микроорганизмов. Показано, что секретируемые протеолитические ферменты исследуемых фитопатогенов представлены главным образом цистеиновыми протеиназами, в меньшей степени – сериновыми и аспартатными. Установлено, что тесная положительная корреляция устойчивости растений к патогенам наблюдается не с хорошо известными и широко распространенными ингибиторами трипсина, а с ингибиторами, активность которых направлена против экзогенных пептидаз, секретируемых грибными патогенами родов *Fusarium*, *Colletotrichum* и *Helminthosporium*. Результаты, полученные в ходе выполнения работы, могут быть использованы в селекционно-генетических исследованиях по созданию сортов и видов сельскохозяйственных культур с повышенной устойчивостью к патогенной микрофлоре и насекомым-вредителям, а также для создания препаратов защитного действия.

Ключевые слова: фитопатогенные микроорганизмы, ингибиторы экзогенных пептидаз, злаковые и бобовые культуры, коэффициенты корреляции, устойчивость к патогенам

Для цитирования: Антифунгальный потенциал белков некоторых сельскохозяйственных растений / В. И. Домаш [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 50–58. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-50-58>

**Valentina I. Domash¹, Mikhail A. Belozersky², Yakov E. Dunaevsky², Oleg A. Ivanov¹,
Tamara P. Sharpio¹, Svetlana A. Zabreiko¹, Tatyana G. Shabashova¹**

¹*Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology of the Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

ANTIFUNGAL POTENTIAL OF SOME PROTEINS AGRICULTURAL PLANTS

Abstract. The results of studies on the presence in the seeds of legumes and cereals of protein inhibitors that are active against animal proteinases (trypsin) and exogenous peptidases of phytopathogenic microorganisms are presented. It has been shown that secreted proteolytic enzymes of the studied phytopathogens are mainly represented by cysteine proteinases, to a lesser extent, serine and aspartane proteinases are present. It has been established that a close positive correlation between plant resistance to pathogens is observed not with well-known and widespread trypsin inhibitors, but with the activity of inhibitors directed against exogenous peptidases secreted by fungal pathogens of the genus *Fusarium*, *Colletotrichum* and *Helminthosporium*. The results obtained in the course of the work can be used in breeding and genetic studies on the creation of varieties and types of crops with increased resistance to pathogenic microflora and insect pests, as well as to create protective preparations.

Keywords: phytopathogenic microorganisms, exogenous peptidase inhibitors, cereals and legumes, correlation coefficients, resistance to pathogen

For citation: Domash V. I., Belozersky M. A., Dunaevsky Y. E., Ivanov O. A., Sharpio T. P., Zabreiko S. A., Shabashova T. G. Antifungal potential of some proteins agricultural plants. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 50–58 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-50-58>

Введение. В процессе роста и развития растения постоянно подвергаются воздействию стрессовых биотических и абиотических факторов. Болезни, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, наносят большой урон урожаю сельскохозяйственных культур. Патогенные организмы способны продуцировать сложную смесь внеклеточных пептидаз, которые, обеспечивая преодо-

ление защитных барьеров растительной клетки, могут участвовать в развитии болезни [1]. С помощью гидролитических ферментов грибных патогенов происходит разложение покровных тканей растений и насекомых, что способствует преодолению барьеров на пути прорастания спор, осуществляющих первые этапы заражения – внедрение паразита внутрь клетки хозяина. Известно, что агрессивность и патогенность микроорганизмов в значительной степени обусловлены активностью внеклеточных пептидаз [2, 3]. К настоящему времени некоторые из них уже выделены и охарактеризованы. Среди внеклеточных пептидаз преобладают в основном сериновые протеиназы, относящиеся к группам трипсино- и субтилизиноподобных ферментов [4]. Возможность получения рекомбинантных ферментов расширила практическое применение пептидаз грибов, которые обладают фибринолитической и антикоагулянтной активностью, расщепляют олигопептиды, придающие пищевым продуктам горький вкус, и др. [5, 6]. К сожалению, сведения о внеклеточных пептидазах патогенов пока немногочисленны. Во многих случаях не исследована связь между активностью внеклеточных пептидаз и патогенностью того или иного микроорганизма. Вследствие этого исследование биохимических свойств секретируемых белков и их функциональной роли является весьма актуальной задачей.

В процессе эволюции растения выработали защитные механизмы, которые позволяют противостоять неблагоприятным факторам, в том числе фитопатогенным микроорганизмам и вредителям. Высшие растения отвечают на стрессовые воздействия рядом биохимических и физиологических изменений, включая, например, такие, как образование и накопление (как один из наиболее эффективных ответов на воздействие неблагоприятных факторов) веществ, которые обладают протекторными свойствами. Среди большого спектра белковых молекул особого внимания заслуживают биологически активные белки – ингибиторы протеиназ. К ним относят большую группу разнообразных белков растений, объединенных способностью образовывать с ферментами обратимые белок-белковые комплексы, в составе которых ферменты утрачивают свою активность [7–9]. Несмотря на значительные успехи в исследовании свойств и структуры (первичной и пространственной) белковых ингибиторов, сведения о физиологических функциях этих белков весьма разноречивы. Белковые ингибиторы не только участвуют в регуляции активности эндогенных протеиназ, но и выступают как защитные агенты, нейтрализующие активность протеиназ патогенных микроорганизмов и насекомых-вредителей. Создается впечатление, что ингибиторы протеолитических ферментов могут играть роль в нескольких процессах, т. е. их можно рассматривать как полифункциональные белки [10].

Цель настоящей работы – сравнительный анализ активности различных классов ингибиторов протеиназ у растений, различающихся по устойчивости к фитопатогенной микрофлоре, в частности белковых ингибиторов экзогенных протеиназ у бобовых и злаковых культур в связи с их устойчивостью к болезням.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили полученные из коллекции MSK-F гербария Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси различные сорта яровой и озимой пшеницы, озимой ржи, ячменя, желтого и узколистного люпина, а также фитопатогенные микромицеты родов *Fusarium*, *Colletotrichum* и *Helminthosporium*, поражающие злаковые и бобовые культуры. Поверхностное культивирование патогенов проводили на агаризованной среде сусло–агар. Для получения секретируемых пептидаз в культуральной жидкости использовали модифицированную среду Чапека. Модификация состояла в том, что в среду добавляли картофельный отвар, а вместо NaNO_3 – дрожжевой экстракт. Культуру грибов выращивали в конических колбах (объем 250–300 мл) в условиях термостата (25 °С в течение 7 дней). Активность экзогенных пептидаз определяли с использованием в качестве субстратов казеина и БАПА (N α -бензоил–DL-аргинин-п-нитроанилид).

Активность нейтральных протеаз (в условиях нейтральных pH) определяли по модифицированному методу Ансона [11]. Реакционная смесь состояла из 1 мл 1 %-ного раствора казеина по Хаммарстену, 1 мл экстракта фермента и 1 мл 1/15 М фосфатного буфера, pH 7,0. Смесь инкубировали 30 мин при 37 °С (время определяли экспериментально, учитывая линейность реакции). Реакцию останавливали 3 мл 5 %-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Затем смесь фильтровали и по поглощению света при 280 нм определяли количество продуктов протеолиза, не осаждаемых

ТХУ. За единицу активности принимали количество фермента, которое вызывает образование 1 мкМ тирозина за 1 мин инкубации.

Активность щелочной протеазы (БАПАазы), действующей в условиях щелочных рН, определяли по методу Эрлангера [12]. Инкубационная смесь состояла из 1 мл 1/15 М фосфатного буфера, рН 8,5, 0,5 мл экстракта и 1 мл 2,3 мМ БАПА. Инкубирование проводили при 37 °С в течение 30 мин. За единицу активности принимали изменение оптической плотности опытных растворов относительно контрольных на 0,01.

Активность белков-ингибиторов трипсина определяли по уменьшению скорости гидролиза субстрата ферментом в присутствии белковых ингибиторов [13]. В качестве субстрата использовали БАПА. Для анализа ингибирующей активности исследуемые семена экстрагировали 0,2 М NaCl. Соотношение навески исследуемого материала и 0,2 М NaCl (масса:объем) подбирали таким образом, чтобы была достигнута максимальная степень извлечения белков. Полученную смесь центрифугировали в течение 30 мин при 5500 g и температуре 4 °С. Супернатант отделяли, «балластные» белки осаждали путем доведения значения рН до 4,0 при помощи 0,1 н. HCl, раствор с осадком отстаивали в течение 4–6 ч и повторно центрифугировали при тех же условиях. Полученный экстракт использовали для определения активности ингибиторов трипсина. Реакционная среда состояла из 0,4 мл трипсина в 0,001 М HCl (20 мкг/мл), 0,6 мл 0,05 М трис-HCl буфера, рН 8,2, содержащего 0,2 М CaCl₂, и 1 мл экстракта ингибитора. Смесь инкубировали при 25 °С в течение 10 мин, после чего добавляли 1 мл БАПА. Контрольный образец вместо 1 мл экстракта содержал 1 мл буфера. Реакцию проводили при 37 °С в течение 30 мин и останавливали 0,5 мл 30 %-ного CH₃COOH. За одну ингибиторную единицу принимали такое количество ингибитора в экстракте, которое тормозит расщепление 1 мкмоль субстрата за 1 мин инкубации.

Активность ингибиторов экзогенных пептидаз фитопатогенных микроорганизмов определяли с использованием 1 % казеина в 1/15 М фосфатном буфере, рН 6,8. Реакционная смесь состояла из 1 мл 1/15 М фосфатного буфера, рН 6,8, 1 мл препарата ингибиторов и 1 мл культуральной жидкости, обладающей протеолитической активностью. Смесь инкубировали при 25 °С в течение 10 мин, после чего добавляли 1 мл казеина. Контрольный образец вместо препарата ингибитора содержал буфер. Инкубацию проводили 30 мин при 37 °С. После этого белки осаждали 3 мл 5 %-ной ТХУ. Смеси фильтровали и определяли поглощение при 280 нм. Уровень активности рассчитывали так же, как и в случае ингибиторов трипсина. За единицу активности принимали снижение оптической плотности реакционной смеси по сравнению с контрольным образцом на 0,01.

Содержание белка определяли по методу Брэдфорда [14].

Устойчивость растений к патогенам определяли по ГОСТ 21507-2013. Для определения устойчивости семян использовали концентрацию спор патогена 50 000 на 1 мл. При анализе подсчитывали количество спор, проросших на 3-и сутки в 10 мкл раствора ингибиторов из изученных растений, и получали средние значения на основании анализа при микроскопировании 10 полей зрения. Расчет производили по следующей формуле: устойчивость (%) = $(\Pi_k - \Pi_0) \cdot 100 / \Pi_k$, где Π_k – степень поражения семян в контроле, Π_0 – степень поражения в опыте.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы Microsoft Excel и включала расчет стандартных ошибок средних арифметических.

Таблица 1. Активность нейтральных и щелочных протеиназ в культуральной жидкости исследуемых грибов, ЕА/мл

Table 1. The activity of neutral and alkaline proteinases in the culture fluid of the studied fungi, EA/ml

Вид гриба	Нейтральные протеазы	Щелочные протеазы
<i>Fusarium avenaceum</i>	40,0	6,0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	14,0	9,0
<i>Helminthosporium teres</i>	50,0	5,4

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования влияния различных условий культивирования фитопатогенных микромицетов показали, что наиболее высокая секреция экзогенных пептидаз фитопатогенов наблюдалась на 20-е сутки культивирования при рН 7,0 и температуре 25 °С. В культуральной жидкости изученных патогенов обнаружена казеинолитическая и БАПАазная активность (табл. 1).

Как видно из табл. 1, активность щелочных пептидаз варьируется в пределах от 11 до 64 %

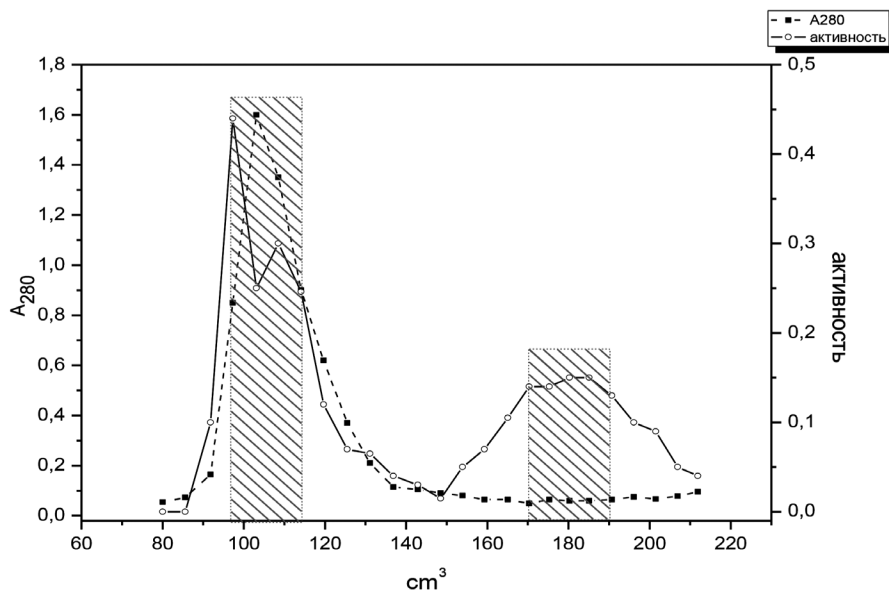


Рис. 1. Гель-хроматография на акрилексе P-30 белков из культуральной жидкости *Fusarium avenaceum*. Заштрихованные области – отобранные фракции с наибольшей активностью

Fig. 1. Acrylex P-30 gel chromatography of proteins from *Fusarium avenaceum* culture medium. Shaded areas – selected fractions with the highest activity

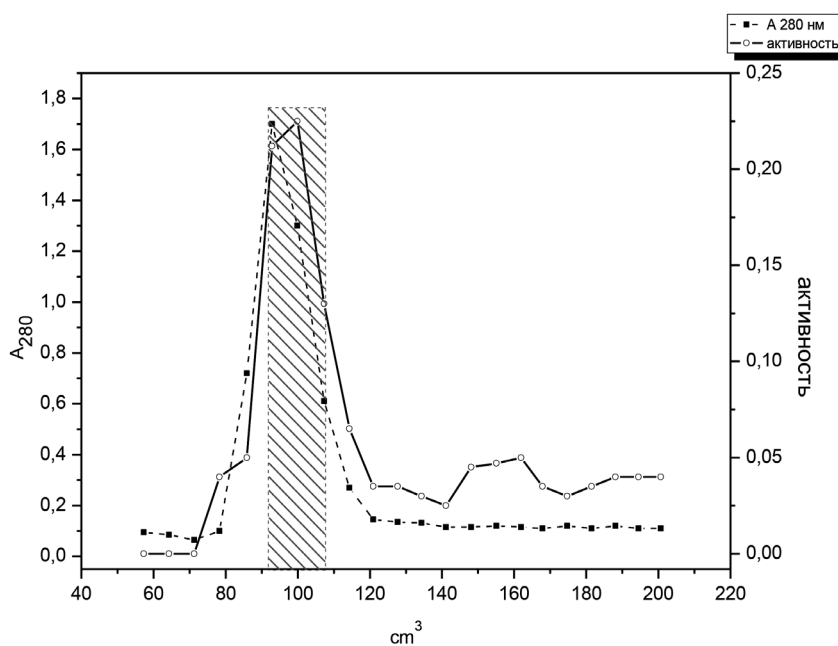


Рис. 2. Гель-хроматография на акрилексе P-30 белков из культуральной жидкости *Colletotrichum gloeosporioides*. Заштрихованная область – отобранные фракции с наибольшей активностью

Fig. 2. Acrylex P-30 gel chromatography of proteins from the culture medium *Colletotrichum gloeosporioides*. The shaded area – selected fractions with the highest activity

относительно общей казеинолитической активности. В процессе изучения экзогенных пептидаз патогенных микроорганизмов проведена работа по их выделению и частичной очистке. Общий вид гель-хроматографии экзогенных пептидаз представлен на рис. 1, 2.

Согласно результатам гель-хроматографии, в культуральной жидкости *F. avenaceum* имеются протеиназы, молекулярные массы которых заметно различаются. Первый хроматографический пик активности приходится на протеолитические ферменты с молекулярной массой в области 40 кДа, второй – на протеиназы с молекулярной массой около 25 кДа. Пик активности протеиназ

C. gloeosporioides находится в диапазоне 38–43 кДа. Анализ функциональных групп активного центра секретируемых пептидаз с использованием синтетических ингибиторов позволил установить, что среди секретируемых протеолитических ферментов преобладают цистеиновые протеазы, в меньшей степени присутствуют сериновые и аспартатные протеазы. В связи с тем что растения отвечают на атаку фитопатогенов синтезом патогенез-ассоциированных белков (PR-белки), среди которых существенное место занимают ингибиторы пептидаз, представляло интерес исследовать взаимосвязь между активностью этих ингибиторов и устойчивостью растений к болезням.

В табл. 2–4 приведены уровни активности ингибиторов трипсина и ингибиторов экзогенных пептидаз у различных по устойчивости к патогенам родов *Colletotrichum*, *Fusarium* и *Helminthosporium* бобовых и злаковых культур.

Т а б л и ц а 2. Активность ингибиторов протеиназ у сортов люпина узколистного с различной устойчивостью к патогену, ИЕ/г абс. сух. массы

Table 2. The activity of proteinase inhibitors in varieties of narrow-leaved lupine with different resistance to the pathogen, IE/g a. s. m.

Сортообразец люпина	Активность ингибиторов		Устойчивость, %
	трипсина	экзогенных пептидаз <i>Colletotrichum gl.</i>	
Верас (н)	3,47 ± 0,01	0,59 ± 0,00	6
П-УБПЛ-12 (н)	3,67 ± 0,06	0,68 ± 0,04	0
Эдельвейс (н)	3,41 ± 0,02	0,76 ± 0,09	0
П-УБПЛ-11 (н)	3,39 ± 0,04	0,44 ± 0,02	27
Миртан (у)	2,14 ± 0,04	1,79 ± 0,00	84
Альянс (у)	2,86 ± 0,03	1,56 ± 0,02	72
Першцвет (у)	3,92 ± 0,01	1,32 ± 0,06	78
М-УПБЛ-32 (у)	3,06 ± 0,02	2,02 ± 0,01	80

Примечание. Сорта: н – неустойчивые, у – устойчивые (определены по ГОСТу).

Результаты исследований показали (см. табл. 2), что между активностью ингибиторов трипсина и активностью ингибиторов экзогенных пептидаз *Colletotrichum gl.* существует слабая отрицательная корреляционная связь ($r = -0,37$), между активностью ингибиторов трипсина и устойчивостью растений к болезни – также отрицательная ($r = -0,35$), а между активностью ингибиторов пептидаз фитопатогенного гриба, вызывающего антракноз, и устойчивостью к нему люпина узколистного – тесная положительная ($r = 0,89$).

Т а б л и ц а 3. Активность ингибиторов трипсина и ингибиторов экзопептидаз *Helminthosporium teres* в зерне ячменя, ИЕ/г абс. сух. массы

Table 3. The activity of trypsin inhibitors and exopeptidase inhibitors of *Helminthosporium teres* in barley grain, IE/g a. s. m.

Сорт ячменя	Активность ингибиторов		Устойчивость, %
	трипсина	экзогенных пептидаз <i>Helminthosporium teres</i>	
Адам	16,58 ± 0,14	5,06 ± 0,17	80
Дева	17,71 ± 0,00	4,89 ± 0,19	40
Корнет	16,89 ± 0,00	5,21 ± 0,13	80
Магутны	16,45 ± 0,00	5,36 ± 0,00	90
Харис	15,70 ± 0,00	5,28 ± 0,06	60

Результаты исследований (табл. 3) позволили также выявить, что между активностью ингибиторов трипсина и активностью ингибиторов экзогенных пептидаз *Helminthosporium teres* существует тесная отрицательная корреляция ($r = -0,77$), между активностью ингибиторов трипсина и устойчивостью ячменя к гельминтоспориозу – средняя отрицательная ($r = -0,42$), а между активностью ингибиторов экзогенных пептидаз патогена и устойчивостью растений ячменя к *Helminthosporium teres* – высокая положительная ($r = +0,70$).

Таблица 4. Активность ингибиторов трипсина и экзопептидаз *Fusarium avenaceum* в семенах культурных растений, ИЕ/г абс. сух. массыTable 4. Activity of trypsin and exopeptidase inhibitors of *Fusarium avenaceum* in seeds of cultivated plants, IE/g a. s. m.

Сорт растений	Активность ингибиторов		Устойчивость, %
	трипсина	экзогенных пептидаз <i>Fusarium avenaceum</i>	
<i>Пшеница озимая</i>			
Аркадия	1,57 ± 0,01	4,27 ± 0,06	90
Ахим	0,63 ± 0,00	3,57 ± 0,29	69
Вилена	1,73 ± 0,00	3,83 ± 0,17	72
Элеганта	1,57 ± 0,00	3,83 ± 0,27	83
Мроя	1,23 ± 0,03	4,00 ± 0,18	82
Люцеус	1,26 ± 0,02	4,07 ± 0,16	80
<i>Пшеница яровая</i>			
КСИ 9/16	3,29 ± 0,00	5,10 ± 0,10	76
КСИ 27/16	3,19 ± 0,01	5,00 ± 0,00	88
№ 132	3,77 ± 0,05	4,25 ± 0,02	60
№ 139	3,90 ± 0,22	4,55 ± 0,07	90
<i>Рожь озимая</i>			
Пралеска	14,88 ± 0,41	3,89 ± 0,13	70
Плиса	16,40 ± 0,00	4,96 ± 0,05	80
Златка	13,68 ± 0,21	3,24 ± 0,16	52
Бинто	11,78 ± 0,00	1,07 ± 0,49	72
Винетто	11,97 ± 0,00	0,87 ± 0,06	55
Полновесная	9,39 ± 0,00	2,61 ± 0,00	70
Вердена	5,04 ± 0,08	9,10 ± 0,10	85
Юбилейная	4,23 ± 0,00	5,90 ± 0,10	84
Дзива × ПД5	4,90 ± 0,17	9,60 ± 0,00	84
Каупо × КП-97	5,47 ± 0,00	9,20 ± 0,00	83
Бирюза	5,03 ± 0,05	8,70 ± 0,00	68

Анализ данных табл. 4 показал, что у озимой пшеницы между активностью ингибиторов трипсина и активностью ингибиторов экзогенных пептидаз *Fusarium avenaceum* коэффициент корреляции равен +0,58. Примерно такая же корреляция между активностью ингибиторов трипсина и устойчивостью озимой пшеницы к фузариозу – +0,49, тогда как между активностью ингибиторов экзогенных пептидаз и устойчивостью к патогену она составляет +0,86. У пшеницы яровой эти показатели более резко расходятся и составляют –0,87; –0,19 и +0,51 соответственно.

Анализ зерна ржи озимой позволил установить наличие высокой обратной корреляционной зависимости ($r = -0,72$) между активностью ингибиторов трипсина и активностью ингибиторов экзогенных пептидаз фитопатогена. Установлено также, что между активностью ингибиторов трипсина и устойчивостью растений к фузариозу коэффициент корреляции составляет –0,53, а между активностью ингибиторов экзогенных пептидаз и устойчивостью к болезни – +0,68.

В табл. 5 представлены данные о действии ингибиторов экзогенных пептидаз из культурных растений на прорастание спор патогенов.

Как показали результаты исследований, ингибиторы пептидаз фитопатогенов из сортов ржи угнетали прорастание спор *Colletotrichum gl.* на 61,5–92,3 %, *Fusarium avenaceum* – на 44,5–75,6 %. Угнетение же прорастания спор этих патогенов ингибиторами из сортов озимой пшеницы составляло 46,2–80,8 и 28,9–77,8 % соответственно. Ингибиторы экзогенных пептидаз из различных сортов ячменя угнетали прорастание спор на 65,4–69,3 и 66,7–77,8 %, а из семян люпина – на 84,6–92,3 и 15,6–82,2 % соответственно.

Следует отметить, что наиболее высокое угнетение прорастания спор наблюдалось при действии ингибиторов экзогенных пептидаз из семян люпина желтого и узколистного в отношении фитопатогена *Colletotrichum gl.*, который является возбудителем болезни антракноза. Наиболее

Таблица 5. Действие ингибиторов экзогенных пептидаз из культурных растений на прорастание спор патогенных грибов

Table 5. Effect of exogenous peptidase inhibitors from cultivated plants on spore germination of pathogenic fungi

Сорт растений	<i>Colletotrichum gl.</i>		<i>Fusarium avenaceum</i>	
	Число проросших спор	Доля непроросших спор, %	Число проросших спор	Доля непроросших спор, %
Контроль	26	0	45	0
<i>Озимая рожь</i>				
Пралеска	4	84,6	11	75,6
Плиса	3	88,5	18	60,0
Винетта	2	92,3	19	57,8
Бинто	10	61,5	25	44,5
<i>Озимая пшеница</i>				
Нутка	14	46,2	32	28,9
Аркадий	5	80,8	10	77,8
<i>Ячмень кормовой</i>				
Дева	9	65,4	15	66,7
Харис	8	69,3	10	77,8
<i>Люпин узколистный</i>				
Миртан	2	92,3	24	46,7
Альянс	2	92,3	38	15,6
<i>Люпин желтый</i>				
Владко	2	92,3	8	82,2
Алтан	4	84,6	9	80,0

сильным было угнетение прорастания спор фитопатогена рода *Fusarium* ингибиторами экзогенных пептидаз из зерна злаковых культур. Полученные нами результаты свидетельствуют о наличии у культурных видов злаковых и бобовых растений ингибиторов пептидаз патогенов, специфичных к грибным возбудителям болезней. Имеющиеся литературные сведения подтверждают полученные нами результаты [15, 16].

Заключение. Результаты исследований показали наличие в семенах различных видов культурных растений не только белковых ингибиторов протеиназ животного происхождения (трипсина), но и ингибиторов экзогенных пептидаз фитопатогенных микроорганизмов. Проведенный анализ различных по устойчивости к патогенам родов *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Helminthosporium* сортообразцов злаковых и бобовых растений позволил выявить взаимосвязь между активностью ингибиторов трипсина, ингибиторов экзогенных пептидаз и устойчивостью растений к патогенам. Следует отметить, что тесная положительная корреляционная связь устойчивости растений к патогенам наблюдается не с активностью хорошо известных и широко распространенных ингибиторов трипсина, а с активностью ингибиторов, угнетающих экзогенные пептидазы, секретируемые патогенами ($r = 0,51-0,89$). Результаты исследований вносят вклад в выяснение механизма взаимодействия патоген–растение и роли в этом процессе специфических белковых ингибиторов экзогенных пептидаз патогенных микроорганизмов. Полученные сведения могут быть полезны при селекции растений и в дальнейшей работе по созданию препаратов защитного действия.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Белорусского и Российского фондов фундаментальных исследований (гранты № Б18Р-053 и № 18-54-00008-Бел.).

Acknowledgements. This work was supported by the Belarusian and Russian Foundation for Basic Research (grants no. B18R-053 and no. 18-54-00008-Bel.).

Список использованных источников

1. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity / M. Chandrasekaran [et al.] // J. Gen. Plant Pathol. – 2016. – Vol. 82, N 5. – P. 233–239. <https://doi.org/10.1007/s10327-016-0672-9>
2. Павлюкова, Е. Б. Внеклеточные протеолитические ферменты мицелиальных грибов (обзор) / Е. Б. Павлюкова, М. А. Белозерский, Я. Е. Дунаевский // Биохимия. – 1998. – Вып. 8. – С. 1039–1089.

3. Extracellular peptidases as possible markers of fungal ecology / T. A. Semenova [et al.] // *Appl. Soil Ecol.* – 2017. – Vol. 113. – P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.002>
4. Proteinases and exopeptidases from the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis* / Y. Mercado-Flores [et al.] // *Mycologia.* – 2003. – Vol. 95, N 2. – P. 327–339. <https://doi.org/10.2307/3762044>
5. Specificity of peptidases secreted by filamentous fungi / Y. A. Neto [et al.] // *Bioengineered.* – 2018. – Vol. 9, N 1. – P. 30–37. <https://doi.org/10.1080/21655979.2017.1373531>
6. Ward, O. P. Production of recombinant proteins by filamentous fungi / O. P. Ward // *Biotechnol. Adv.* – 2012. – Vol. 30, N 5. – P. 1119–1139. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.09.012>
7. Mosolov V. V. The role of proteolytic enzymes and their inhibitors in plant protection (review) / V. V. Mosolov, L. I. Grigor'eva, T. A. Valueva // *Прикл. биохимия и микробиол.* – 2001. – Т. 37, № 2. – С. 131–140.
8. Активность ингибиторов протеаз и устойчивость пшеницы к возбудителю твердой головне / А. М. Ямалеев [и др.] // *Сельскохозяйств. биология.* – 1980. – Т. 15, № 1. – С. 143–144.
9. Взаимосвязь между уровнем ингибиторов протеиназ и устойчивостью озимой пшеницы к фузариозу / А. Г. Волчевская [и др.] // *Физиол. и биохимия культур. растений.* – 1991. – Т. 23, № 4. – С. 365–370.
10. Мосолов, В. В. Ингибиторы протеиназ из растений как полифункциональные белки (обзор) / В. В. Мосолов, Л. И. Григорьева, Т. А. Валуева // *Прикл. биохимия и микробиол.* – 2001. – Т. 37, № 6. – С. 643–650.
11. Anson, M. Z. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin / M. Z. Anson // *J. Gen. Physiol.* – 1938. – Vol. 22, N 1. – P. 79–89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>
12. Erlanger, F. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / F. Erlanger, N. Kokowsky, W. Cohen // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1961. – Vol. 95, N 2. – P. 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-x](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-x)
13. Гофман, Ю. Я. Определение активности ингибиторов трипсина в семенах гороха / Ю. Я. Гофман, И. М. Вайсблай // *Прикл. биохимия и микробиология.* – 1975. – Т. 11, вып. 5. – С. 777–787.
14. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding / M. M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72, N 1–2. – P. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
15. Ибрагимов, Р. И. Подавление активности внеклеточных протеиназ патогенного гриба *Fusarium sp.* ингибиторами из семян и вегетативных органов растений / Р. И. Ибрагимов // *Докл. РАСХН.* – 1997. – № 2. – С. 15–17.
16. Яруллина, Л. Г. Гидролитические ферменты и их белковые ингибиторы в регуляции взаимоотношений растений с патогенами / Л. Г. Яруллина, А. Р. Ахатова, Р. И. Касимова // *Физиол. растений.* – 2016. – Т. 63, № 2. – С. 205–217.

References

1. Chandrasekaran M., Thangavelu B., Chun S. C., Sathiyabama M. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. *Journal of General Plant Pathology*, 2016, vol. 82, no. 5, pp. 233–239. <https://doi.org/10.1007/s10327-016-0672-9>
2. Pavlyukova E. B., Belozerskii M. A., Dunaevskii Ya. E. Extracellular proteolytic enzymes of mycelial fungi (review). *Biochemistry*, 1998, iss. 8, pp. 1039–1089 (in Russian).
3. Semenova T. A., Dunaevsky Y. E., Beljakova G. A., Borisov B. A., Shamraichuk I. L., Belozersky M. A. Extracellular peptidases as possible markers of fungal ecology. *Applied Soil Ecology*, 2017, vol. 113, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.002>
4. Mercado-Flores Y., Hernandez-Rodriguez C., Ruiz-Herrera J., Villa-Tanaca L. Proteinases and exopeptidases from the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis*. *Mycologia*, 2003, vol. 95, no. 2, pp. 327–339. <https://doi.org/10.2307/3762044>
5. Neto Y. A., da Rosa Garzon N. G., Pedezzi R., Cabral H. Specificity of peptidases secreted by filamentous fungi. *Bioengineered*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.1080/21655979.2017.1373531>
6. Ward O. P. Production of recombinant proteins by filamentous fungi. *Biotechnology Advances*, 2012, vol. 30, no. 5, pp. 1119–1139. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.09.012>
7. Mosolov V. V., Grigor'eva L. I., Valueva T. A. The role of proteolytic enzymes and their inhibitors in plant protection (review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied of Biochemistry and Microbiology*, 2001, vol. 37, no. 2, pp. 131–140 (in Russian).
8. Yamaleev A. M., Mukhsinov V. Kh., Isaev R. F., Yamaleeva A. A., Krivchenko V. I. The activity of protease inhibitors and the resistance of wheat to the pathogen of hard smut. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural biology]*, 1980, vol. 15, no. 1, pp. 143–144 (in Russian).
9. Volchevskaya A. G., Adamovskaya V. G., Levitskii A. P., Vovchuk S. V. The relationship between the level of proteinase inhibitors and the resistance of winter wheat to Fusarioz. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii [Physiology and biochemistry of cultivated plants]*, 1991, vol. 23, no. 4, pp. 365–370 (in Russian).
10. Mosolov V. V., Grigor'eva L. I., Valueva T. A. Plant proteinase inhibitors as multifunctional proteins (review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied of Biochemistry and Microbiology*, 2001, vol. 37, no. 6, pp. 643–650 (in Russian).
11. Anson M. Z. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *Journal of General Physiology*, 1938, vol. 22, no. 1, pp. 79–89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>
12. Erlanger F., Kokowsky N., Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1961, vol. 95, no. 2, pp. 271–278. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-x](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-x)
13. Gofman Yu. Ya., Vaisblai I. M. Determination of the activity of trypsin inhibitors in pea seeds. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied of Biochemistry and Microbiology*, 1975, vol. 11, no. 5, pp. 777–787 (in Russian).

14. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1–2, pp. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

15. Ibragimov R. I. Suppression of the activity of extracellular proteinases of the pathogenic fungus *Fusarium sp.* inhibitors from seeds and vegetative organs of plants. *Doklady Rossiiskoi akademii sel'skokhozyaistvennykh nauk* [Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences], 1997, no. 2, pp. 15–17 (in Russian).

16. Yarullina L. G., Akhatova A. R., Kasimova R. I. Hydrolytic enzymes and their protein inhibitors in the regulation of plant relationships with pathogens. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 2016, vol. 63, no. 2, pp. 205–217 (in Russian).

Информация об авторах

Домаш Валентина Иосифовна – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: valdomash@mail.ru

Белозерский Михаил Андреевич – профессор, ведущий отделом. Научно-исследовательский институт физико-химической биологии МГУ (Ленинские горы, 1, стр. 40, 119992, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: mbeloz@belozersky.msu.ru

Дунаевский Яков Ефимович – гл. науч. сотрудник, профессор. Научно-исследовательский институт физико-химической биологии МГУ (Ленинские горы, 1, стр. 40, 119992, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: dun@belozersky.msu.ru

Иванов Олег Александрович – канд. биол. наук, ведущий сектором. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: protlife1984@gmail.ru

Шарпио Тамара Петровна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Забрейко Светлана Алексеевна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Шабашова Татьяна Гарьевна – канд. биол. наук, ведущий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Valentina I. Domash – D. Sc. (Biol.), Chief researcher. Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: valdomash@mail.ru

Mikhail A. Belozersky – Professor, Head of the Department. A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology of the Moscow State University (1, build. 40, Leninskiye gory, 119992, Moscow, Russian Federation). E-mail: mbeloz@belozersky.msu.ru

Yakov E. Dunaevsky – Professor, Chief researcher. A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology of the Moscow State University (1, build 40, Leninskiye gory, 119992, Moscow, Russian Federation). E-mail: dun@belozersky.msu.ru

Oleg A. Ivanov – Ph. D. (Biol.), Head of the Department. Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: protlife1984@gmail.ru

Tamara P. Sharpio – Researcher. Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Svetlana A. Zabreiko – Researcher. Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Tatyana G. Shabashova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 634.737:581.5:581.522.4(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-59-70>

Поступила в редакцию 02.10.2019

Received 02.10.2019

**Ж. А. Рупасова¹, И. М. Гаранович¹, Т. В. Шпитальная¹, Н. Б. Павловский¹,
Л. В. Гончарова¹, Т. И. Василевская¹, Н. Б. Креницкая¹, А. Г. Павловская¹,
М. Л. Пигуль², Л. В. Фролова²**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт плодородия, аг. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЛОДОВ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВ ERICACEAE И ACTINIDIACEAE В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Приведены результаты сравнительного исследования в контрастные по гидротермическому режиму сезоны усредненных коэффициентов вариации 14 показателей биохимического состава плодов 4 видов интродуцентов из сем. Ericaceae и Actinidiaceae – *O. macrocarpus*, *V. corymbosum*, *A. arguta* и *A. kolomikta*. Показано, что в сортовом ряду *O. macrocarpus* наибольшей интегральной устойчивостью биохимического состава плодов к комплексному воздействию метеорологических факторов характеризовался районированный сорт *Stevens*, наименьшей – сорт *Holistar Red*, в сортовом ряду *V. corymbosum* – соответственно сорта *Bluejay* и *Sunrise*. В таксономическом ряду *A. arguta* наибольшая устойчивость к абиотическим факторам установлена у природной формы, наименьшая – у сорта *Сентябрьская*, в таксономическом ряду *A. kolomikta* – соответственно у сортов *Ароматная* и *Сентябрьская*. Наименьшей изменчивостью у всех или у большинства интродуцентов отличались параметры накопления в плодах сухих веществ, гидроксикоричных кислот, растворимых сахаров и общего количества биофлавоноидов, а у обоих видов сем. Actinidiaceae также содержание пектиновых веществ. При этом высокой стабильностью у *O. macrocarpus* характеризовалось содержание в плодах титруемых кислот и антоциановых пигментов, у *V. corymbosum* – катехинов, флавонолов и дубильных веществ, у *A. kolomikta* – титруемых кислот, лейкоантоцианов и катехинов. Соответственно, наиболее выраженная зависимость от гидротермического режима сезона установлена у *O. macrocarpus* для показателя сахарокислотного индекса и содержания в плодах катехинов, у *V. corymbosum* – для содержания пектиновых веществ и собственно антоцианов, у *A. arguta* – для уровня катехинов, у *A. kolomikta* – для содержания аскорбиновой кислоты и флавонолов.

Ключевые слова: метеорологические факторы, клюква крупноплодная, голубика высокорослая, актинидия аргута, актинидия коломикта, сорта, плоды, биохимический состав, органические кислоты, углеводы, биофлавоноиды, коэффициент вариации

Для цитирования: Влияние метеорологических факторов на изменчивость биохимического состава плодов интродуцированных видов семейств Ericaceae и Actinidiaceae в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. навук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 59–70. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-59-70>

**Zhanna A. Rupasova¹, Igor M. Garanovich¹, Tamara V. Shpitalnaya¹, Nikolay B. Pavlovskiy¹,
Ljudmila V. Goncharova¹, Tamara I. Vasilevskaya¹, Natalia B. Krinickaya¹, Alla G. Pavlovskaya¹,
Marina L. Pigul², Ljudmila V. Frolova²**

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

²Institute of Fruit Growing, ag. Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus

INFLUENCE OF METEOROLOGICAL FACTORS ON VARIABILITY OF BIOCHEMICAL COMPOSITION OF FRUITS OF INTRODUCED SPECIES OF ERICACEAE AND ACTINIDIACEAE FAMILIES IN CONDITIONS OF BELARUS

Abstract. The article describes results of a comparative study conducted in seasons of contrasting hydrothermic regimes of averaged variation coefficients of 14 indexes of biochemical composition of fruits of 4 species of introduced plants from families Ericaceae and Actinidiaceae – *O. macrocarpus*, *V. corymbosum*, *A. arguta* and *A. kolomikta*. It has been shown that the highest integral resistance of biochemical composition of fruits to the complex impact of meteorological factors among *O. macrocarpus* varieties is characteristic of the released *Stevens* variety, the lowest one – of *Holistar Red*, among *V. corymbosum* varieties – of *Bluejay* and *Sunrise* respectively. In the taxonomic row of *A. arguta* the highest resistance to abiotic factors is found in the natural form, the lowest one – in *Sentjabrskaja* variety, in the taxonomic row of *A. kolomikta* – in *Aromatnaja* and *Sentjabrskaja* varieties respectively. The greatest variability in all or most introduced varieties is characteristic of parameters of accumulation in fruits of dry substances, hydroxycinnamic acids, soluble sugars and the total amount of bioflavonoids,

as well as the content of pectin substances for both species of Actinidiaceae family. At the same time, *O. macrocarpus* is characterized by high stability of the content of titrated acids and anthocyanin pigments in fruits, *V. corymbosum* – of catechins, flavonols and tannins, *A. kolomikta* – of titrated acids, leucoanthocyanins and catechins. Accordingly, the most distinct dependence on the seasonal hydrothermal regime has been found in *O. macrocarpus* for its sugar-acid index and the content of catechins in fruits, in *V. corymbosum* – for that of pectin substances and true anthocyanins, in *A. arguta* – for catechins content, for *A. kolomikta* – for that of ascorbic acid and flavonols.

Keywords: meteorological factors, large-fruited cranberry, tall blueberry, actinidia arguta, actinidia kolomikta, varieties, fruits, biochemical composition, organic acids, carbohydrates, bioflavonoids, variation coefficient

For citation: Rupasova Zh. A., Garanovich I. M., Shpitalnaya T. V., Pavlovskiy N. B., Goncharova L. V., Vasilevskaya T. I., Krinickaya N. B., Pavlovskaya A. G., Pigul M. L., Frolova L. V. Influence of meteorological factors on variability of biochemical composition of fruits of introduced species of Ericaceae and Actinidiaceae families in conditions of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 59–70 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-59-70>

Введение. Важнейшим аспектом интродукционных исследований, связанных с сортоизучением малораспространенных культур плодовоговодства, является сравнительная оценка биохимического состава плодов в многолетнем цикле наблюдений, дающая представление не только о его генотипических особенностях, но и о степени зависимости содержания действующих веществ от гидротермического режима сезона, в значительной мере определяющей их органолептические свойства. Рассмотрение данного аспекта ответной реакции новых, ранее не изучавшихся интродуцированных сортов новых высоковитаминных видов сем. Ericaceae и Actinidiaceae – *Oxycoccus macrocarpus* Ait. Pers, *Vaccinium corymbosum* L., *Actinidia arguta* Siebold et Zucc. Planch, ex Miq. и *Actinidia kolomikta* Maxim. & Rupr. на комплексное воздействие метеорологических факторов представляется нам весьма актуальным, поскольку крайне неустойчивый характер погодных условий в период вегетации растений и созревания их плодов, свойственный Белорусскому региону, как правило, существенно влияет на темпы накопления тех или иных соединений, оказывая тем самым корректирующее действие на питательную и витаминную ценность ягодной продукции [1, 2]. Изучение же данного вопроса позволит выявить среди перечисленных видов сорта, наиболее перспективные не только по вкусовым свойствам плодов, обусловленным особенностями их биохимического состава, но и по степени устойчивости его отдельных компонентов к комплексному воздействию метеорологических факторов в районе интродукции.

Цель работы – определить степень зависимости 14 характеристик биохимического состава плодов новых интродуцированных сортов 4 видов интродуцентов из семейств Ericaceae и Actinidiaceae от погодных условий вегетационного периода.

Материалы и методы исследования. Исследования выполнены в контрастные по погодным условиям сезоны 2016 и 2017 гг. на экспериментальном участке лаборатории интродукции и технологии ягодных растений ЦБС НАН Беларуси (Ганцевичский р-н Брестской обл.), находящемся на территории центральной агроклиматической зоны Беларуси в районе распространения легких песчаных дерново-подзолистых почв и осушенных верховых торфяников. Вегетационный период первого сезона был отмечен повышенным температурным фоном при умеренном и временами избыточном выпадении осадков, тогда как сезон 2017 г. характеризовался частыми резкими колебаниями температуры воздуха, временами уступавшей средней многолетней норме при дефиците осадков, и в целом не был особо благоприятным для полной реализации интродуцентами их биологического потенциала.

В качестве объектов исследования были использованы плоды 6 сортов *O. macrocarpus* – *Stevens*, *Bain Favorit*, *Hiliston*, *Holistar Red*, *Stankovich*, *WSU 108*, 9 сортов *V. corymbosum* – *Bluecrop (st)*, *Bluejay*, *Nui*, *Puru*, *Spartan*, *Sunrise*, *Toro*, *Brigitta Blue*, *Elliott*, 5 сортов (*Киевская крупноплодная*, *Киевская гибридная*, *Ласунка*, *Пурпурная садовая* и *Сентябрьская*) и природной формы *A. arguta*, а также 8 сортов (*Превосходная*, *Ароматная*, *Достойная*, *Однодомная*, *Сентябрьская*, *ВИР-1*, *Вафельная* и *Ботаническая*) и природной формы *A. kolomikta*.

Сравнительную оценку биохимического состава плодов интродуцентов осуществляли по широкому спектру показателей, относящихся к разным классам действующих веществ. В свежих усредненных пробах зрелых плодов определяли содержание: сухих веществ – по ГОСТ 28561-90 [3]; аскорбиновой кислоты (витамина С) – стандартным индофенольным методом [4]; титруемых кис-

лот (общей кислотности) – объемным методом [4]. В высушенных при температуре 60 °С пробах растительного материала определяли содержание: гидроксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую) – спектрофотометрическим методом [5]; растворимых сахаров – ускоренным полумикрометодом [6]; пектиновых веществ – кальциево-пектатным методом [4]; суммы антоциановых пигментов – по методу T. Swain, W. E. Hillis [7] (с построением градуировочной кривой по кристаллическому цианидину, полученному из плодов аронии черноплодной и очищенному по методике Ю. Г. Скориковой и Э. А. Шафтан [8]); собственно антоцианов и суммы катехинов (с использованием ванилинового реактива) – фотоэлектроколориметрическим методом [4, 9]; суммы флавонолов (в пересчете на рутин) – спектрофотометрическим методом [4]; дубильных веществ – титрометрическим методом Левентала [10]. Все аналитические определения выполнены в трехкратной биологической повторности. Данные статистически обработаны с использованием программы Excel.

Результаты и их обсуждение. На основании сравнительного исследования усредненных в сортовых рядах интродуцентов 14 количественных характеристик биохимического состава плодов в контрастные по погодным условиям сезоны 2016 и 2017 гг. выявлены разноориентированные межсезонные различия в содержании в них действующих веществ разной химической природы, в основном в пределах 5–25 %, но в отдельных случаях достигавшие 29, 36 и 66 % (табл. 1). У всех или у большинства исследуемых видов установлена общность тенденций в изменении значений сахарокислотного индекса плодов и содержания в них сухих веществ, катехинов и флавонолов, титруемых и гидроксикоричных кислот. При этом во втором сезоне выявлено сходство в направленности изменений содержания в плодах *O. macrocarpus* и *A. arguta* аскорбиновой кислоты, лейкоантоцианов и общего количества биофлавоноидов, в плодах *V. corymbosum* и *A. kolomikta* – содержания аскорбиновой кислоты, лейкоантоцианов, дубильных веществ и общего количества биофлавоноидов, что обусловлено близостью сроков созревания плодов у данных пар интродуцентов.

Т а б л и ц а 1. Межсезонные различия (2017/2016 гг.) усредненных в сортовых рядах интродуцентов сем. Ericaceae и Actinidiaceae количественных показателей биохимического состава плодов, %

Table 1. Interseasonal differences (2017/2016) of quantitative indexes of fruits biochemical composition averaged in varieties rows of introduced plants of fam. Ericaceae and Actinidiaceae, %

Показатель	<i>Oxycoccus macrocarpus</i>	<i>Vaccinium corymbosum</i>	<i>Actinidia arguta</i>	<i>Actinidia kolomikta</i>
Сухие вещества, %	–6,2	–	–10,6	–5,9
Свободные органические кислоты, %	+15,0	+23,0	+22,6	+12,6
Аскорбиновая кислота, мг%	–17,4	+28,6	–9,0	+21,8
Гидроксикоричные кислоты, мг%	–6,8	–11,5	–25,7	+4,6
Растворимые сахара, %	–21,9	+7,6	–	–
Сахарокислотный индекс	–26,7	–19,8	–35,6	–10,7
Пектиновые вещества, %	+20,8	+65,5	–	–15,5
Собственно антоцианы, мг%	–	–24,5	+23,6	–5,2
Лейкоантоцианы, мг%	+21,4	–10,3	–16,7	–
Общее к-во антоциановых пигментов, мг%	+12,8	–19,0	–18,9	–21,8
Катехины, мг%	–	–	+6,5	–11,2
Флавонолы, мг%	–24,1	–	–12,2	–24,2
Общее к-во биофлавоноидов, мг%	+5,0	–15,0	–10,6	–
Дубильные вещества, %	+19,5	–4,6	+22,6	–

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

Выявленные различия анализируемых признаков у представителей обоих семейств в годы наблюдений свидетельствовали о разной степени их зависимости от погодных условий вегетационного периода. Для установления межвидовых различий степени данной зависимости было проведено сравнительное исследование уровней изменчивости усредненных показателей биохимического состава плодов в сортовых рядах интродуцентов в двухлетнем цикле наблюдений. При этом мы ориентировались на значения коэффициентов вариации (V, %) рассматриваемых

признаков, по которым можно судить об уровне их зависимости от метеорологических факторов, т. е. чем выше коэффициент вариации, тем сильнее эта зависимость, и наоборот. Исследуемые показатели распределяли в соответствии со шкалой Г. Н. Зайцева [11] на 5 групп: с очень низким уровнем изменчивости ($V < 7\%$), низким ($V = 8–12\%$), средним ($V = 13–20\%$), повышенным ($V = 21–40\%$) и очень высоким ($V > 41\%$).

Сравнительный анализ данных табл. 2–5 выявил весьма широкие диапазоны изменений в двухлетнем цикле наблюдений коэффициентов вариации количественных характеристик биохимического состава плодов исследуемых видов сем. Ericaceae и Actinidiaceae. Это свидетельствовало о разном уровне их зависимости от гидротермического режима сезона и позволяло обозначить анализируемые признаки, а также таксоны интродуцентов, обладавшие как наибольшей, так и наименьшей степенью данной зависимости.

Т а б л и ц а 2. Усредненные в двухлетнем цикле наблюдений значения коэффициентов вариации (V, %) количественных показателей биохимического состава плодов новых интродуцированных сортов *Oxycoccus macrocarpus*

Table 2. Values of variation coefficients (V, %) of quantitative indexes of biochemical composition of fruits of new introduced varieties of *Oxycoccus macrocarpus* averaged in the 2-year observation cycle

Показатель	<i>Stevens</i>	<i>Bain Favorit</i>	<i>Hiliston</i>	<i>Holistar Red</i>	<i>Stankovich</i>	<i>WSU 108</i>	Среднее для показателя
Сухие вещества	7,0	6,9	1,2	5,1	6,0	1,1	4,6
Свободные органические кислоты	4,0	8,1	5,6	16,9	17,0	9,2	10,1
Аскорбиновая кислота	12,9	16,5	22,4	11,0	6,0	11,8	13,4
Гидроксикоричные кислоты	5,9	4,5	18,7	18,1	2,2	2,1	8,6
Растворимые сахара	10,6	13,2	28,7	22,0	13,6	19,6	18,0
Сахарокислотный индекс	15,7	17,0	38,6	35,4	30,3	24,4	26,9
Пектиновые вещества	9,4	10,7	42,4	17,8	2,3	7,9	15,1
Собственно антоцианы	1,5	10,7	16,6	32,3	20,7	8,7	15,1
Лейкоантоцианы	3,9	5,3	26,9	32,2	11,5	7,4	14,5
Общее к-во антоциановых пигментов	1,8	1,4	12,0	13,6	14,6	7,9	8,6
Катехины	3,3	35,1	29,6	33,1	2,6	36,9	23,4
Флавонолы	16,5	14,6	13,5	31,6	16,3	23,6	19,4
Общее к-во биофлавоноидов	1,4	6,1	11,6	12,0	7,5	3,2	7,0
Дубильные вещества	11,2	2,9	22,2	35,9	13,5	10,7	16,1
Среднее для сорта	7,5	10,9	20,7	22,6	11,7	12,5	

Как следует из табл. 6, изменчивость показателей биохимического состава плодов исследуемых видов в двухлетнем цикле наблюдений в значительной мере определялась генотипом растений. К примеру, у *O. macrocarpus* на долю самых устойчивых признаков с очень низким уровнем изменчивости приходилось от 7 % у сорта *Holistar Red* до 57 % у районированного сорта *Stevens*. Аналогичные диапазоны долевого участия признаков с ее низким и средним уровнями соответствовали областям значений от 14 до 43 % и от 7 до 36 %. Вместе с тем наиболее высокой долей признаков с повышенным уровнем изменчивости в годы наблюдений, достигавшей 43 и 50 %, характеризовались сорта *Hiliston* и *Holistar Red* при полном отсутствии таковых у сорта *Stevens*, и лишь в единичном случае (у сорта *Hiliston*) были выявлены признаки с очень высоким уровнем изменчивости, на долю которых приходилось 7 % от их общего количества. При усреднении в таксономическом ряду *O. macrocarpus* показателей долевого участия признаков с разным уровнем изменчивости установлено, что основное их количество (более 75 %) отличалось весьма низкими и в меньшей степени средними его значениями, тогда как на долю признаков с повышенной изменчивостью приходилось в среднем не более 24 %. Это свидетельствовало о сравнительно слабой зависимости биохимического состава плодов данного вида в целом от погодных условий вегетационного периода.

Исследуемые сорта *V. corymbosum*, независимо от сроков созревания, были отмечены весьма существенным и вполне сопоставимым с *O. macrocarpus* долевым участием в биохимическом составе плодов показателей с очень низким и низким уровнями изменчивости в двухлетнем цикле

Т а б л и ц а 3. Усредненные в двулетнем цикле наблюдений значения коэффициентов вариации (V, %) количественных показателей биохимического состава плодов новых интродуцированных сортов *Vaccinium corymbosum*

Table 3. Values of variation coefficients (V, %) of quantitative indexes of biochemical composition of fruits of new introduced varieties of *Vaccinium corymbosum* averaged in the 2-year observation cycle

Показатель	<i>Bluecrop</i>	<i>Bluejay</i>	<i>Nui</i>	<i>Puru</i>	<i>Spartan</i>	<i>Sunrise</i>	<i>Toro</i>	<i>Brigitta Blue</i>	<i>Elliott</i>	Среднее для показателя
Сухие вещества	2,5	0,9	0,5	0,4	8,0	3,3	7,5	8,6	5,1	4,1
Свободные органические кислоты	19,9	33,3	31,8	36,1	25,4	24,6	2,5	3,0	7,0	20,4
Аскорбиновая кислота	17,9	4,8	4,1	10,8	9,8	30,1	23,7	35,9	21,0	17,6
Гидроксикоричные кислоты	9,1	0	6,0	11,9	5,3	5,9	3,4	29,4	22,7	10,4
Растворимые сахара	5,3	12,8	7,2	5,0	7,9	3,6	3,6	0	2,7	5,3
Сахарокислотный индекс	14,1	19,6	25,1	30,5	17,0	21,6	0	3,4	8,8	15,6
Пектиновые вещества	41,1	35,4	32,8	30,6	50,0	31,5	39,9	32,9	27,6	35,8
Собственно антоцианы	22,0	15,4	13,5	41,7	12,1	44,0	17,4	13,6	32,0	23,5
Лейкоантоцианы	8,8	5,8	8,7	10,6	9,6	28,8	30,5	5,9	16,8	13,9
Общее к-во антоциановых пигментов	16,3	11,7	11,5	29,5	11,1	37,4	22,8	10,6	26,2	19,7
Катехины	4,7	3,6	17,6	12,1	3,6	6,6	21,8	18,1	2,9	10,1
Флавонолы	2,0	14,2	18,7	13,3	10,1	10,8	9,9	3,3	11,8	10,5
Общее к-во биофлавоноидов	12,3	6,5	4,7	22,3	9,7	30,9	17,5	8,9	23,0	15,1
Дубильные вещества	19,7	8,7	15,0	16,9	2,3	8,5	5,6	12,2	10,1	11,0
Среднее для сорта	14,0	12,3	14,1	19,4	13,0	20,5	14,7	13,3	15,6	

Т а б л и ц а 4. Усредненные в двулетнем цикле наблюдений значения коэффициентов вариации (V, %) количественных показателей биохимического состава плодов новых интродуцированных сортов *Actinidia arguta*

Table 4. Values of variation coefficients (V, %) of quantitative indexes of biochemical composition of fruits of new introduced varieties of *Actinidia arguta* averaged in the 2-year observation cycle

Показатель	Природная форма	Киевская крупноплодная	Киевская гибридная	Ласунка	Сентябрьская	Среднее для показателя
Сухие вещества	10,7	7,5	13,0	9,5	8,9	9,9
Свободные органические кислоты	1,2	0,7	12,6	4,2	58,2	15,4
Аскорбиновая кислота	13,8	46,8	7,5	32,8	44,2	29,0
Гидроксикоричные кислоты	8,9	6,4	13,9	24,4	23,4	15,4
Растворимые сахара	1,4	2,9	9,9	7,7	6,0	5,6
Сахарокислотный индекс	2,5	2,3	22,3	3,0	62,1	18,4
Пектиновые вещества	2,8	5,2	14,3	0,8	3,4	5,3
Лейкоантоцианы	12,5	17,1	9,3	16,9	34,5	18,1
Катехины	33,7	24,5	17,6	17,6	14,4	21,6
Флавонолы	11,5	14,3	29,1	10,3	9,5	14,9
Общее к-во биофлавоноидов	16,3	2,6	2,5	6,2	23,7	10,3
Дубильные вещества	2,6	22,5	6,2	16,9	20,1	13,7
Среднее для сорта	9,8	12,7	13,2	12,5	25,7	

наблюдений – 14–43 % (при минимальном значении у сорта *Puru* и максимальном у сорта *Bluejay*) и 14–57 % (при минимальном значении у сортов *Bluejay*, *Nui*, *Sunrise* и *Toro* и максимальном у сорта *Spartan*) (см. табл. 6).

Относительная доля показателей со средним и повышенным уровнями изменчивости также была сопоставима с таковой у *O. macrocarpus* и составляла соответственно 7–36 и 7–50 % при максимальных значениях в первом случае у районированного сорта *Bluecrop*, во втором – у сорта *Sunrise*. При этом наименьшим количеством показателей со средним уровнем изменчивости и даже их отсутствием в годы наблюдений характеризовались сорта *Sunrise*, *Elliott* и *Spartan*, для которых, как и для сорта *Bluecrop*, было показано минимальное количество признаков с ее повышенным уровнем. Однако примерно половина сортов *V. corymbosum* была отмечена наличием признаков с очень высоким уровнем изменчивости, доля которых составляла 7 %.

Т а б л и ц а 5. Усредненные в двухлетнем цикле наблюдений значения коэффициентов вариации (V, %) количественных показателей биохимического состава плодов интродуцированных таксонов *Actinidia kolomikta*

Table 5. Values of variation coefficients (V, %) of quantitative indexes of biochemical composition of fruits of introduced taxa of *Actinidia kolomikta* averaged in the 2-year observation cycle

Показатель	Природная форма	Уровень изменчивости, %						Среднее для показателя
		Ароматная	Достойная	Однодомная	Сентябрьская	ВИР-1	Вафельная	
Сухие вещества	8,1	0,7	11,7	10,9	15,4	9,2	16,2	10,3
Свободные органические кислоты	6,0	2,3	2,4	8,6	35,0	21,7	5,0	11,6
Аскорбиновая кислота	19,0	8,5	2,3	16,4	23,4	22,0	15,2	15,3
Гидроксикоричные кислоты	12,0	14,4	5,4	4,1	10,8	9,6	5,1	8,8
Растворимые сахара	18,9	6,4	1,1	2,8	6,8	1,9	0	5,4
Сахарокислотный индекс	14,1	9,4	4,0	11,3	39,6	25,3	5,4	15,6
Пектиновые вещества	7,4	1,8	5,5	28,0	14,0	5,9	4,2	9,5
Лейкоантоцианы	0,7	2,6	21,8	0	4,6	4,8	22,7	8,2
Катехины	7,5	11,9	3,2	6,3	9,8	2,8	12,3	7,7
Флавонолы	42,9	15,0	34,8	38,0	12,5	7,0	31,3	25,9
Общее к-во биофлавоноидов	17,0	2,8	21,2	15,4	0,7	1,5	23,9	11,8
Дубильные вещества	26,6	5,2	6,4	28,0	27,6	4,4	40,0	19,7
Среднее для сорта	15,0	6,8	10,0	14,2	16,7	9,7	15,1	

Т а б л и ц а 6. Относительная доля показателей биохимического состава плодов представителей сем. Ericaceae и Actinidiaceae с разным уровнем изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений, %

Table 6. Relative share of indexes of biochemical composition of fruits of fam. Ericaceae and Actinidiaceae representatives with different levels of variability in the 2-year observation cycle, %

Таксон	Уровень изменчивости, %				
	очень низкий (< 7)	низкий (8–12)	средний (13–20)	повышенный (21–40)	очень высокий (>41)
<i>Oxycoccus macrocarpus</i>					
<i>Stevens</i>	57	22	21	0	0
<i>Bain Favorit</i>	43	21	29	7	0
<i>Hiliston</i>	14	14	22	43	7
<i>Holistar Red</i>	7	14	29	50	0
<i>Stankovich</i>	36	14	36	14	0
<i>WSU 108</i>	29	43	7	21	0
Среднее для вида	31	21	24	23	1
<i>Vaccinium corymbosum</i>					
<i>Bluecrop</i>	29	21	36	7	7
<i>Bluejay</i>	43	14	29	14	0
<i>Nui</i>	36	14	29	21	0
<i>Puru</i>	14	29	14	36	7
<i>Spartan</i>	22	57	7	7	7
<i>Sunrise</i>	29	14	0	50	7
<i>Toro</i>	36	14	14	36	0
<i>Brigitta Blue</i>	36	29	14	21	0
<i>Elliott</i>	29	21	7	43	0
Среднее для вида	30	24	17	26	3
<i>Actinidia arguta</i>					
Природная форма	42	33	17	8	0
<i>Киевская крупноплодная</i>	50	8	17	17	8
<i>Киевская гибридная</i>	17	25	42	16	0
<i>Ласунка</i>	33	25	25	17	0
<i>Сентябрьская</i>	17	17	16	25	25
Среднее для вида	32	22	23	16	7

Окончание табл. 6

Таксон	Уровень изменчивости, %				
	очень низкий (< 7)	низкий (8–12)	средний (13–20)	повышенный (21–40)	очень высокий (>41)
<i>Actinidia kolomikta</i>					
Природная форма	25	25	34	8	8
<i>Ароматная</i>	58	25	17	0	0
<i>Достойная</i>	67	8	0	25	0
<i>Однородная</i>	33	25	17	25	0
<i>Сентябрьская</i>	25	25	17	33	0
<i>ВИР-1</i>	58	17	0	25	0
<i>Вафельная</i>	42	8	17	33	0
Среднее для вида	44	19	15	21	1

При усреднении же в таксономическом ряду доли показателей биохимического состава плодов с разным уровнем изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений была выявлена сопоставимость полученных значений для ее очень низкого и низкого уровней с таковыми у *O. macrocarpus*. Вместе с тем для *V. corymbosum* было показано на 7 % меньшее, чем у последней, доленое участие признаков со средним уровнем изменчивости за счет увеличения такового с ее повышенным и очень высоким уровнями, что указывало на большую зависимость биохимического состава плодов *V. corymbosum* в целом от гидротермического режима вегетационного периода. Это положение согласуется с результатами наших более ранних исследований других сортов данных видов сем. Ericaceae [12].

Как следует из табл. 6, у представителей сем. Actinidiaceae межвидовые различия в этом плане отличались большей выразительностью при определенном сходстве с представителями сем. Ericaceae диапазонов варьирования в таксономических рядах долевого участия биохимических показателей с разным уровнем изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений. Так, у *A. arguta* доля признаков с очень низким и низким уровнями данной изменчивости составляла соответственно 17–50 % (при максимальном значении у сорта *Киевская крупноплодная* и минимальном у сортов *Киевская гибридная* и *Сентябрьская*) и 8–33 % (при максимальном значении у природной формы и минимальном у сорта *Киевская крупноплодная*). Подобные диапазоны для показателей со средним и повышенным уровнями изменчивости соответствовали областям значений 16–42 % (максимальном у сорта *Киевская гибридная* и минимальном у сорта *Сентябрьская*) и 8–25 % (максимальном у сорта *Сентябрьская* и минимальном у природной формы). Вместе с тем в таксономическом ряду *A. arguta* лишь два сорта – *Киевская крупноплодная* и *Сентябрьская* характеризовались довольно значительной долей показателей (соответственно 8 и 25 %) с очень высоким уровнем изменчивости в годы наблюдений, что свидетельствовало о более выраженной, чем у других представителей данного вида, зависимости биохимического состава их плодов от погодных условий вегетационного периода.

У *A. kolomikta* относительная доля показателей с очень низким и низким уровнями изменчивости в период наблюдений соответствовала областям значений в первом случае от 25 до 67 % (максимальном у сорта *Достойная* и минимальном у природной формы и сорта *Сентябрьская*), во втором – от 8 до 25 % при сопоставимости приведенных показателей у большинства таксонов данного вида. Аналогичная картина наблюдалась и в отношении анализируемых признаков с повышенным уровнем изменчивости, на долю которых приходилось от 8 до 33 %, причем у сорта *Ароматная* подобных признаков не выявлено. При этом весь сортовой материал *A. kolomikta*, в отличие от природной формы, характеризовался отсутствием в биохимическом составе плодов показателей с очень высоким уровнем изменчивости в годы наблюдений. При усреднении в таксономических рядах исследуемых видов сем. Actinidiaceae показателей долевого участия признаков с разным уровнем изменчивости у *A. kolomikta* установлено на 12 % большее, чем у *A. arguta*, количество таковых с очень низким уровнем, что в сочетании с меньшим количеством признаков с очень высоким уровнем изменчивости могло свидетельствовать о менее выраженной зависимости биохимического состава плодов первого вида от погодных условий вегетационного периода.

Таким образом, на фоне определенного сходства у интродуцированных видов сем. Ericaceae и Actinidiaceae усредненных в таксономических рядах показателей долевого участия в биохимическом составе плодов характеристик с разным уровнем изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений в целом была установлена более выраженная зависимость этой изменчивости от гидротермического режима сезона у *V. corymbosum* и *A. arguta*, нежели у *O. macrocarpus* и *A. kolomikta*.

Вместе с тем из табл. 2–5 следует, что интегральный уровень изменчивости биохимического состава плодов в двухлетнем цикле наблюдений, оцениваемый по средневзвешенным значениям варибельности совокупности анализируемых признаков, в таксономическом ряду *O. macrocarpus* соответствовал области значений от 7,5 до 22,6 при следующей последовательности тестируемых сортов данного вида в порядке усиления степени зависимости биохимического состава плодов в целом от погодных условий вегетационного периода: *Stevens* > *Bain Favorit* > *Stankovich* > *WSU 108* > *Hiliston* > *Holistar Red*.

Как видим, наиболее устойчивым к их комплексному воздействию он оказался у районированного сорта *Stevens*, тогда как наименее устойчивым – у сорта *Holistar Red* при расхождении у них данного параметра в 3,0 раза.

Подобный диапазон изменения в сортовом ряду *V. corymbosum* средневзвешенных значений коэффициентов вариации совокупности анализируемых признаков соответствовал более узкой, чем у предыдущего вида, области значений – от 12,3 до 20,5 при следующем расположении тестируемых объектов в соответствии с усилением степени зависимости биохимического состава плодов в целом от гидротермического режима сезона: *Bluejay* > *Spartan* > *Brigitta Blue* > *Bluecrop* = *Nui* > *Toro* > *Elliott* > *Puru* > *Sunrise*.

Отсюда следует, что наименьшей зависимостью от него интегрального уровня питательной и витаминной ценности плодов отличался сорт *Bluejay*, тогда как наибольшей – сорт *Sunrise* при расхождении у них данного параметра в 1,7 раза. Как видим, *V. corymbosum* характеризовалась менее выраженным, чем *O. macrocarpus*, влиянием генотипа на изменчивость биохимического состава плодов в двухлетнем цикле наблюдений.

Что касается видов сем. Actinidiaceae, то диапазон изменения в таксономическом ряду *A. arguta* средневзвешенных значений коэффициентов вариации совокупности биохимических характеристик плодов был сопоставим с таковым у *O. macrocarpus* и охватывал область значений от 9,8 до 25,7 при следующем расположении тестируемых объектов в порядке усиления влияния на нее погодных условий вегетационного периода: природная форма > *Ласунка* = *Киевская крупноплодная* > *Киевская гибридная* > *Сентябрьская*.

Отсюда следует, что наиболее выраженной устойчивостью к комплексному воздействию абиотических факторов в районе интродукции характеризовался интегральный уровень питательной и витаминной ценности плодов природной формы данного вида. Некоторым отставанием от нее в этом плане были отмечены сорта *Ласунка*, *Киевская крупноплодная* и особенно *Киевская гибридная* при наибольшем расхождении ее с сортом *Сентябрьская*, достигавшем 2,6-кратной величины.

Подобный диапазон изменений варибельности данного признака в двухлетнем цикле наблюдений у *A. kolomikta* соответствовал области более низких, чем у *A. arguta* и у обоих видов сем. Ericaceae, значений – от 6,8 до 16,7 при следующем расположении тестируемых объектов в порядке усиления влияния на него гидротермического режима сезона: *Ароматная* > *ВИР-1* > *Достойная* > *Однодомная* > природная форма = *Вафельная* > *Сентябрьская*.

Как видим, наиболее выраженной устойчивостью к комплексному воздействию метеорологических факторов в годы наблюдений характеризовался биохимический состав плодов сорта *Ароматная*, тогда как наименьшей – сорта *Сентябрьская* при расхождении у них величины данного показателя в 2,5 раза.

Возвращаясь к табл. 2–5, нетрудно убедиться, что лишь отдельные характеристики биохимического состава плодов исследуемых видов интродуцентов характеризовались относительной стабильностью уровня изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений. В большинстве же случаев соответствие уровня варибельности определенной области принятой градации имело место далеко не у всех таксонов, и зачастую диапазон его изменений для того или иного признака в пределах сортового ряда охватывал все области данной градации. На наш взгляд, интегральное

Таблица 7. Средние для таксономических рядов представителей сем. Ericaceae и Actinidiaceae значения коэффициентов вариации показателей биохимического состава плодов и их позиции в ряду усиления степени зависимости от абиотических факторов в двухлетнем цикле наблюдений

Table 7. Values of variation coefficients of indexes of fruits biochemical composition and their positions in the ranking of a growing dependence on abiotic factors average for taxonomic rows of Ericaceae and Actinidiaceae families representatives in the 2-year observation cycle

Показатель	<i>Oxycoccus macrocarpus</i>		<i>Vaccinium corymbosum</i>		<i>Actinidia arguta</i>		<i>Actinidia kolomikta</i>	
	Уровень изменчивости (V, %)	Область градации изменчивости	Уровень изменчивости (V, %)	Область градации изменчивости	Уровень изменчивости (V, %)	Область градации изменчивости	Уровень изменчивости (V, %)	Область градации изменчивости
Сухие вещества	4,6	1	4,1	1	9,9	2	10,3	2
Свободные органические кислоты	10,1	2	20,4	3	15,4	3	11,6	2
Аскорбиновая кислота	13,4	3	17,6	3	29,0	4	15,3	3
Гидроксикоричные кислоты	8,6	2	10,4	2	15,4	3	8,8	2
Растворимые сахара	18,0	3	5,3	1	5,6	1	5,4	1
Сахарокислотный индекс	26,9	4	15,6	3	18,4	3	15,6	3
Пектиновые вещества	15,1	3	35,8	4	5,3	1	9,5	2
Собственно антоцианы	15,1	3	23,5	4	–	–	–	–
Лейкоантоцианы	14,5	3	13,9	3	18,1	3	8,2	2
Общее к-во антоциановых пигментов	8,6	2	19,7	3	18,1	3	8,2	2
Катехины	23,4	4	10,1	2	21,6	4	7,7	2
Флавонолы	19,4	3	10,5	2	14,9	3	25,9	4
Общее к-во биофлавоноидов	7,0	1	15,1	3	10,3	2	11,8	2
Дубильные вещества	16,1	3	11,0	2	13,7	3	19,7	3

Примечание. Прочерк (–) означает отсутствие данных; 1 – <7 %; 2 – 8–12 %; 3 – 13–20 %; 4 – 21–40 %.

представление о степени устойчивости к атмосферным воздействиям количественных показателей биохимического состава плодов интродуцентов в двухлетнем цикле наблюдений могут дать усредненные в таксономических рядах значения коэффициентов вариации исследуемых признаков, приведенные в табл. 7.

Анализ этих данных позволил выявить в ряде случаев сходство у исследуемых видов параметров изменчивости анализируемых признаков, характеризующих степень их межсезонных различий. Так, наименее выразительными (в пределах очень малой изменчивости) они были лишь в единичных случаях – для содержания сухих веществ в плодах обоих видов сем. Ericaceae, растворимых сахаров в плодах *V. corymbosum* и обоих видов сем. Actinidiaceae, пектиновых веществ в плодах *A. arguta*, а также для суммарного количества биофлавоноидов в плодах *O. macrocarpus*, что позволяло охарактеризовать данные показатели как наиболее устойчивые к гидротермическому режиму вегетационного периода. Значительно шире у исследуемых видов интродуцентов оказался спектр показателей с малой изменчивостью в двухлетнем цикле наблюдений. Наиболее отчетливо это проявилось у *A. kolomikta*, у которой он охватывал большинство характеристик биохимического состава плодов, в том числе содержание в них сухих и пектиновых веществ, титруемых и гидроксикоричных кислот, лейкоантоцианов, катехинов и общее количество биофлавоноидов, что также позволяло отнести обозначенные признаки к относительно устойчивым к воздействию метеорологических факторов. Лишь для содержания аскорбиновой кислоты и дубильных веществ, а также для показателя сахарокислотного индекса был установлен средний, а для содержания флавонолов повышенный уровень изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений. У *A. arguta* количество признаков с малой изменчивостью было вчетверо меньшим, нежели

у *A. kolomikta*, и к ним были отнесены лишь параметры накопления сухих веществ и общее количество биофлавоноидов. Большинство же характеристик биохимического состава плодов данного вида обладало средним уровнем изменчивости, и только содержание в них аскорбиновой кислоты и катехинов – повышенным. Сходством малого уровня изменчивости в годы наблюдений у обоих видов сем. Ericaceae было отмечено лишь содержание в плодах гидроксикоричных кислот, тогда как сходством среднего уровня – количество аскорбиновой кислоты и лейкоантоцианов. В остальных же случаях проявились довольно выразительные межвидовые различия. Так, у *O. macrocarpus* малым уровнем изменчивости были отмечены лишь параметры накопления свободных органических кислот и общее количество антоциановых пигментов. Для большинства же характеристик биохимического состава плодов данного вида, как и *A. arguta*, был установлен средний уровень изменчивости в двухлетнем цикле наблюдений и лишь для содержания катехинов и показателя сахарокислотного индекса – повышенный. Что касается *V. corymbosum*, то наряду с содержанием гидроксикоричных кислот, малым уровнем изменчивости были отмечены также параметры накопления в плодах катехинов, флавонолов и дубильных веществ. Для остальных же показателей их биохимического состава был показан средний, реже – повышенный (содержание пектиновых веществ и собственно антоцианов) уровень изменчивости. Вместе с тем ни для одного из показателей биохимического состава плодов исследуемых видов интродуцентов не установлено очень высокого интегрального уровня данной изменчивости.

Поскольку данный показатель может быть использован в качестве критерия устойчивости исследуемых характеристик биохимического состава плодов интродуцентов к комплексному воздействию погодных факторов в районе интродукции, то наиболее высоким ее уровнем у всех или у большинства исследуемых видов следовало признать содержание в них сухих веществ, гидроксикоричных кислот, растворимых сахаров и общее количество биофлавоноидов, а у обоих видов сем. Actinidiaceae также содержание пектиновых веществ. Наряду с этим высокой стабильностью в годы наблюдений у *O. macrocarpus* характеризовались содержание в плодах титруемых кислот и общее количество антоциановых пигментов, у *V. corymbosum* – параметры накопления катехинов, флавонолов и дубильных веществ, у *A. kolomikta* – содержание титруемых кислот, лейкоантоцианов и катехинов. Соответственно, у *O. macrocarpus* наиболее выраженную зависимость от гидротермического режима вегетационного периода показали значения сахарокислотного индекса и содержание в плодах катехинов, у *V. corymbosum* – параметры накопления пектиновых веществ и собственно антоцианов, у *A. arguta* – содержание катехинов, а у *A. kolomikta* – количества аскорбиновой кислоты и флавонолов. Сопоставление приведенной информации по данному вопросу для обоих видов сем. Ericaceae с результатами, полученными нами в предыдущих исследованиях в этом же районе Брестской области, но с иным набором сортов *O. macrocarpus* и *V. corymbosum* [12], выявило их заметное сходство, что свидетельствует об общности тенденций в изменчивости характеристик биохимического состава плодов каждого вида под воздействием абиотических факторов в районе интродукции.

Заключение. На основании сравнительного исследования в двухлетнем цикле наблюдений усредненных коэффициентов вариации 14 показателей биохимического состава плодов 4 видов интродуцентов из сем. Ericaceae и Actinidiaceae (*O. macrocarpus*, *V. corymbosum*, *A. arguta* и *A. kolomikta*) установлена их более выраженная зависимость в целом от гидротермического режима сезона у растений *V. corymbosum* и *A. arguta*, нежели у *O. macrocarpus* и *A. kolomikta*. Среди сортов *O. macrocarpus* наибольшей интегральной устойчивостью биохимического состава плодов к комплексному воздействию метеорологических факторов характеризовался районированный сорт *Stevens*, наименьшей – сорт *Holistar Red*, в сортовом ряду *V. corymbosum* – соответственно сорта *Bluejay* и *Sunrise*. В таксономическом ряду *A. arguta* наибольшая устойчивость к метеорологическим факторам установлена у природной формы, наименьшая – у сорта *Сентябрьская*, в таксономическом ряду *A. kolomikta* – соответственно у сортов *Ароматная* и *Сентябрьская*.

Наиболее высокой устойчивостью к комплексному воздействию погодных факторов у всех или у большинства интродуцентов отличались параметры накопления в плодах сухих веществ, гидроксикоричных кислот, растворимых сахаров и общее количество биофлавоноидов, а у обоих видов сем. Actinidiaceae также содержание пектиновых веществ. При этом высокой стабильностью

в годы наблюдений у *O. macrocarpus* характеризовались параметры накопления в плодах титруемых кислот и антоциановых пигментов, у *V. corymbosum* – содержание катехинов, флавонолов и дубильных веществ, у *A. kolomikta* – количества титруемых кислот, лейкоантоцианов и катехинов. Соответственно, наиболее выраженная зависимость от гидротермического режима сезона установлена у *O. macrocarpus* для показателя сахарокислотного индекса и содержания в плодах катехинов, у *V. corymbosum* – для уровней пектиновых веществ и собственно антоцианов, у *A. arguta* – для содержания катехинов, у *A. kolomikta* – для количества аскорбиновой кислоты и флавонолов.

Список использованных источников

1. Влияние погодных условий вегетационного периода на биохимический состав плодов шиповника и калины обыкновенной при интродукции в Беларусь / Ж. А. Рупасова [и др.] // Плодоводство : науч. тр. / Ин-т плодоводства. – 2013. – Т. 25. – С. 309–325.
2. Межсезонные различия биохимического состава плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) при интродукции в Беларусь / Ж. А. Рупасова [и др.] // Плодоводство : сб. науч. тр. / Ин-т плодоводства. – 2016. – Т. 28. – С. 227–236.
3. Методы определения сухих веществ : ГОСТ 8756.2-82. – Введ. 01.01.1983. – М. : Изд-во стандартов, 1982. – 5 с.
4. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Л. : Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. – 429 с.
5. Марсов, Н. Г. Фитохимическое изучение и биологическая активность брусники, клюквы и черники : дис. ... канд. фармацевт. наук : 15.00.02 / Н. Г. Марсов. – Пермь, 2006. – 200 л.
6. Плешков, Б. П. Практикум по биохимии растений : учеб. пособие / Б. П. Плешков. – 3-е изд., доп. и перераб. – М. : Колос, 1985. – 255 с.
7. Swain, T. The phenolic constituents of *Prunus Domestica*. 1. The quantitative analysis of phenolic constituents / T. Swain, W. Hillis // J. Sci. Food Agric. – 1959. – Vol. 10, N 1. – P. 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
8. Скорикова, Ю. Г. Методика определения антоцианов в плодах и ягодах / Ю. Г. Скорикова, Э. А. Шафтан // Тр. III Всесоюз. семинара по биологически активным (лечебным) веществам плодов и ягод (27–30 сент. 1966 г.) / Урал. лесотехн. ин-т. – Свердловск, 1968. – С. 451–461.
9. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В. Ю. Андреева [и др.] // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 19–21.
10. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Государственная фармакопея СССР / редкол. : Ю. Г. Бобков [и др.]. – М., 1987. – Вып. 1 : Общие методы анализа. – С. 286–287.
11. Зайцев, Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г. Н. Зайцев. – М. : Наука, 1984. – 424 с.
12. Формирование биохимического состава плодов видов семейства Ericaceae (Вересковые) при интродукции в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.] ; под ред. В. И. Парфенова. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 307 с.

References

1. Rupasova Zh. A., Garanovich I. M., Shpital'naya T. V., Vasilevskaya T. I., Varavina N. P., Krinitskaya N. B., Legkaya L. V., Titok V. V. The influence of weather conditions of the vegetation period on the biochemical composition of rose hips and viburnum ordinary when introduced into Belarus. *Plodovodstvo: nauchnye trudy* [Fruit growing: scientific papers], 2013, vol. 25, pp. 309–325 (in Russian).
2. Rupasova Zh. A., Garanovich I. M., Shpital'naya T. V., Vasilevskaya T. I., Krinitskaya N. B., Tishkovskaya E. V., Pinchukova Yu. M., Frolova L. V., Murashkevich L. A., Titok V. V. Interseasonal differences in the biochemical composition of the fruits of mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.) upon introduction into Belarus. *Plodovodstvo: sbornik nauchnykh trudov* [Fruit growing: collection of scientific papers], 2016, vol. 28, pp. 227–236 (in Russian).
3. State Standard 8756.2-82. *Methods for determination of dry substance*. Moscow, Publishing House for Standards, 1982. 5 p. (in Russian).
4. Ermakov A. I., Arasimovich V. V., Yarosh N. P., Perushanskii Yu. V., Lukovnikova G. A., Ikonnikova M. I. *Methods of biochemical research of plants*. 3rd ed. Leningrad, Agropromizdat. Leningradskoe otделение Publ., 1987. 429 p. (in Russian).
5. Marsov N. G. *Phytochemical study and biological activity of cranberries, cranberries and blueberries*. Ph. D. thesis. Permian, 2006. 200 p. (in Russian).
6. Pleshkov B. P. *Practical work on plant biochemistry*. 3rd ed. Moscow, Kolos Publ., 1985. 255 p. (in Russian).
7. Swain T., Hillis W. The phenolic constituents of *Prunus Domestica*. 1. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1959, vol. 10, no. 1, pp. 63–68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
8. Skorikova Yu. G., Shaftan E. A. Method for the determination of anthocyanins in fruits and berries. *Trudy III Vsesoyuznogo seminaru po biologicheski aktivnym (lechebnym) veshchestvam plodov i yagod (27–30 sentyabrya 1966 goda)* [Proceedings of the III All-Union seminar on biologically active (medicinal) substances of fruits and berries (September 27–30, 1966)]. Sverdlovsk, 1968, pp. 451–461 (in Russian).
9. Andreeva V. Yu., Kalinkina G. I., Kolomiets N. E., Isaikina N. V. Method for the determination of anthocyanins in the fruit of chokeberry aronia. *Farmatsiya = Pharmacy*, 2013, no. 3, pp. 19–21 (in Russian).

10. Determination of the content of tannins in medicinal plant raw materials. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. Выпуск 1* [State Pharmacopoeia of the USSR. Iss. 1]. Moscow, 1987, pp. 286–287 (in Russian).

11. Zaitsev G. N. *Mathematical statistics in experimental botany*. Moscow, Nauka Publ., 1984. 424 p. (in Russian).

12. Rupasova Zh. A., Reshetnikov V. ., Vasilevskaya T. I., Yakovlev A. P., Pavlovskii N. B. *Formation of the biochemical composition of the fruits of the Ericaceae family (Heathers) when introduced in Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 307 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

Гаранович Игорь Михайлович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: I.Garanovich@cbg.org.by

Шпитальная Тамара Васильевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bel.dendr@gmail.com

Павловский Николай Болеславович – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pavlovskiy@tut.by

Гончарова Людмила Владимировна – канд. биол. наук, уч. секретарь. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: L.Goncharova@cbg.org.by

Василевская Тамара Ивановна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: T.Vasileuskaya@cbg.org.by

Криницкая Наталья Болеславовна – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь).

Павловская Алла Генриховна – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pavlovskiy@tut.by

Пигуль Марина Леоновна – науч. сотрудник. Институт плодородства (ул. Ковалева, 2, 223013, аг. Самохваловичи, Минский район, Минская область, Республика Беларусь).

Фролова Людмила Владимировна – канд. с.-х. наук, заведующий лабораторией. Институт плодородства (ул. Ковалева, 2, 223013, аг. Самохваловичи, Минский район, Минская область, Республика Беларусь).

Information about the authors

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

Igor M. Garanovich – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: I.Garanovich@cbg.org.by

Tamara V. Shpitalnaya – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bel.dendr@gmail.com

Nikolay B. Pavlovskiy – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pavlovskiy@tut.by

Ljudmila V. Goncharova – Ph. D. (Biol.), Scientific Secretary. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: L.Goncharova@cbg.org.by

Tamara I. Vasilevskaya – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: T.Vasileuskaya@cbg.org.by

Natalia B. Krinitskaya – Researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

Alla G. Pavlovskaya – Researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pavlovskiy@tut.by

Marina L. Pigul' – Researcher. Institute of Fruit Growing (Kovalev Str., 2, 223013, ag. Samokhvalovich, Minsk Region, Republic of Belarus).

Ljudmila V. Frolova – Ph. D. (Agric.), Head of the Laboratory. Institute of Fruit Growing (Kovalev Str., 2, 223013, ag. Samokhvalovich, Minsk Region, Republic of Belarus).

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.192.2:582.893
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-71-75>

Поступила в редакцию 05.11.2019
Received 05.11.2019

Н. А. Ламан, А. В. Усик

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

ЛОКАЛИЗАЦИЯ И СОСТАВ КУМАРИНОВ В КОРНЯХ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО (*HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN.)

Аннотация. В статье представлены результаты исследования локализации кумариновых соединений в подземных органах борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.). Установлено, что кумариновые соединения накапливаются в виде белого секрета в эндогенных секреторных структурах корней. Хроматографическое разделение содержимого секреторных структур показало наличие в нем четырех веществ фурукумариновой природы: ангелицина, бергаптена, ксантотоксина и псоралена.

Ключевые слова: *Heracleum sosnowskyi* Manden., борщевик Сосновского, кумарины, фурукумарины, тонкослойная хроматограмма, секреторные вместилища, корень

Для цитирования: Ламан, Н. А. Локализация и состав кумаринов в корнях борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) / Н. А. Ламан, А. В. Усик // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 71–75. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-71-75>

Nikolai A. Laman, Anastasia W. Usik

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

LOCALIZATION AND COMPOSITION OF COUMARINS IN ROOTS OF *HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN.

Abstract. There are research results of the localization of coumarins in roots. Coumarins accumulated in the form of a white secret (latex) in the secretory structures of roots. Chromatographic separation of latex showed four furocoumarins in the roots of *Heracleum*. These are angelicin, bergapten, xanthotoxin and psoralen.

Keywords: *Heracleum sosnowskyi* Manden., coumarins, furocoumarins, thin layer chromatography, secretory tissues, roots

For citation: Laman N. A., Usik A. W. Localization and composition of coumarins in roots of *Heracleum sosnowskyi* Manden. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 71–75 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-71-75>

Введение. Растения накапливают вещества разной химической природы в специализированных секреторных структурах, которые располагаются как на поверхности, так и непосредственно в тканях и органах. Качественный состав накапливаемого секрета определяется таксономическим положением растения. Огромный интерес представляют растения, которые накапливают соединения кумаринового ряда.

Борщевик Сосновского, представитель семейства Зонтичные, способен накапливать в виде секрета вещества кумариновой природы. Известно, что эти вещества обладают широким спектром биохимических и фармакологических эффектов. Производные кумарина и фурукумарины могут не только вызывать ожоги на коже человека под воздействием УФ-света, оказывая тем самым фотосенсибилизирующее действие [1, 2], но и проявлять противоопухолевую [3, 4] и антиоксидантную активность [5], что позволяет применять их для лечения многих заболеваний [6–8].

За последнее десятилетие появилось много данных по анатомическому строению подземных органов растений семейства Зонтичные. Известно, что для представителей данного семейства характерно наличие в корнях различных внутренних секреторных структур, таких как секреторные каналы, или протоки [9–12], схизогенные вместилища [13].

Активное изучение растений рода Борщевик приходится на начало 1960-х годов. Именно в этот период широко исследовалась морфология растений данного рода [14–17]. Установлено, что для корня борщевика Сосновского характерно наличие хорошо выраженного погружения в почву [15]. Однако данные об анатомическом строении подземных органов борщевика Сосновского, в частности о находящихся в них секреторных структурах, в литературе малочисленны [18, 19].

Цель работы – изучение морфологического строения секреторных структур корней борщевика Сосновского и качественного состава, содержащегося в них секрета.

Материалы и методы исследования. Морфологические особенности секреторных структур изучали на живых растениях, собранных в сентябре 2019 г. из естественных мест произрастания. Для изучения секреторных структур предварительно производили поперечные срезы корней с помощью лезвия. Для изучения морфологической структуры использовали биологический микроскоп BYLAN (ТУ РБ 14724552.048-97) и микроскоп Olympus SZ61. Наблюдения регистрировали в виде фотографий, сделанных с помощью специальной фотонасадки к микроскопу Huawei 5.0MP USB Cmos, при 1- и 10-кратном увеличении. Тип секреторных структур устанавливали в соответствии с классификацией Г. А. Денисовой [20], а извлечение секрета из вместилищ – по методике, приведенной в работе [21].

Для идентификации накапливаемых в секреторных структурах веществ использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ) как наиболее быстрый метод определения качественного состава органических веществ в смеси. Пробоподготовку к проведению ТСХ осуществляли путем экстракции растительного материала хлороформом. Для ТСХ были взяты силикагелевые пластины CNMLab (Испания) с алюминиевой подложкой, толщиной слоя силикагеля 0,2 мм и флуоресцентным индикатором. В качестве стандартов использовали кумарины умбеллиферон, эскулетин,

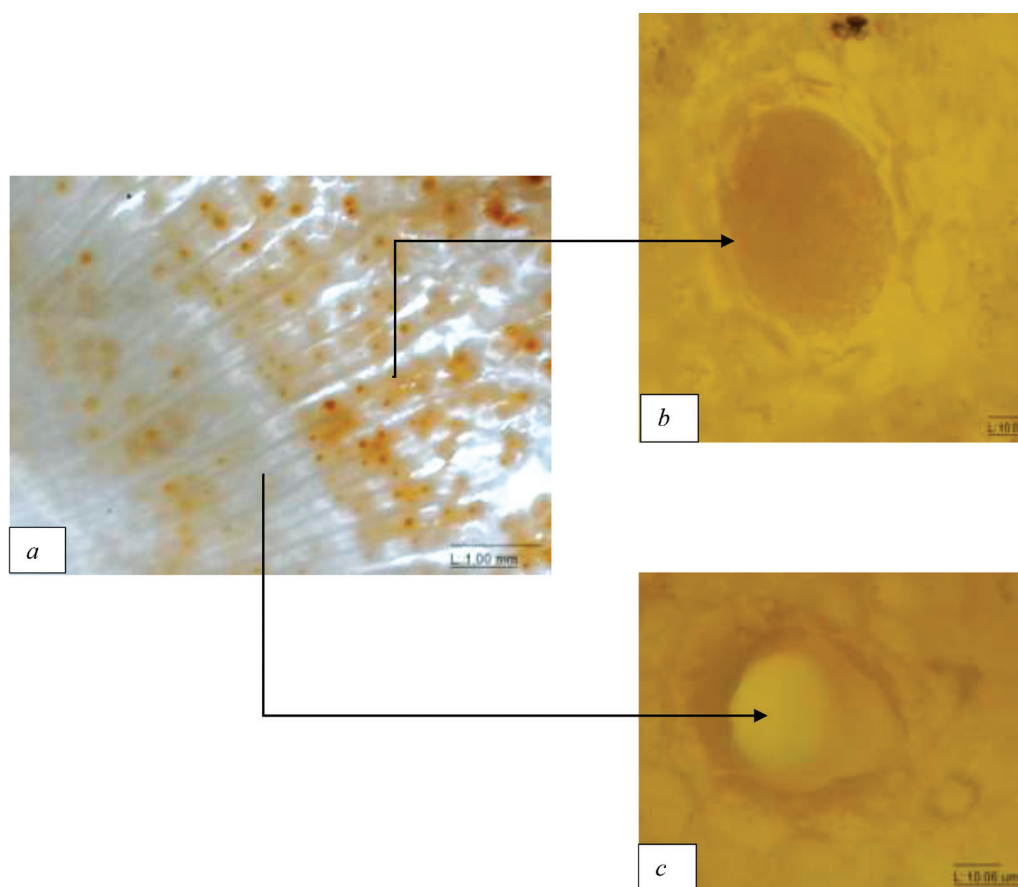


Рис. 1. Секреторные структуры в корне борщевика Сосновского: *a* – общий вид ($\times 1$); *b* – секреторная структура, наполненная латексом ($\times 10$); *c* – пустая секреторная структура ($\times 10$)

Fig. 1. Secretory structures in root of *Heracleum sosnowskyi* Manden.: *a* – general view ($\times 1$); *b* – secretory structures with latex ($\times 10$); *c* – blank secretory tissue ($\times 10$)

скополетин и фурукумарины ангелицин, ксантотоксин, бергаптен, псорален. Первоначально был произведен подбор подвижной фазы. Наилучшее разделение было достигнуто при составе подвижной фазы петролейный эфир:этилацетат:бензол в соотношении 2:1:0,5.

Результаты и их обсуждение. Согласно классификации, предложенной Г. А. Денисовой [20], в зависимости от происхождения все секреторные структуры можно разделить на две большие группы: экзогенные (эпидермальное происхождение) и эндогенные (основная, или васкулярная, меристема).

По нашим данным, корень борщевика Сосновского содержит эндогенные секреторные каналы, находящиеся в экзо- и мезодерме (рис. 1).

Большинство секреторных каналов находится в экзодерме. Установлено, что чем ближе к латеральной части корня располагаются секреторные образования, тем больше их диаметр. Во всех секреторных структурах корня содержится белая густая жидкость – латекс, которая со временем темнеет на воздухе.

Для проведения исследования качественного состава веществ кумариновой природы, накапливающихся в секреторных структурах, латекс извлекали, слегка нажимая на срез корня, с помощью шприца и наносили на хроматограмму.

В результате исследований установлено, что в секрете корня борщевика Сосновского на хроматограммах обнаруживается 10 веществ кумариновой природы (R_f – 0,85; 0,62; 0,56; 0,51; 0,48; 0,42; 0,4; 0,35; 0,29; 0,2), среди которых присутствуют фурукумарины: ангелицин ($R_f = 0,51$), ксантотоксин ($R_f = 0,4$), бергаптен ($R_f = 0,35$), псорален ($R_f = 0,4$).

Следует отметить, что ксантотоксин и псорален имеют одинаковый R_f , что указывает на отсутствие разделения веществ при данной подвижной фазе и необходимость ее модификации. Из рис. 2 видно также, что в секрете корня не обнаружены кумарины умбелиферон ($R_f = 0,23$) и скополетин ($R_f = 0,09$), а эскулетин выявлен лишь в небольших количествах ($R_f = 0,06$).

Заключение. Таким образом, в эндогенных секреторных структурах корней борщевика Сосновского обнаруживается белый млечный сок – латекс, при этом на срезах имеются как заполненные латексом вместилища, так и секреторные структуры без содержимого. Хроматографическое разделение содержимого секреторных структур показало наличие в нем 4 веществ фурукумариновой природы: ангелицина, бергаптена, ксантотоксина и псоралена.

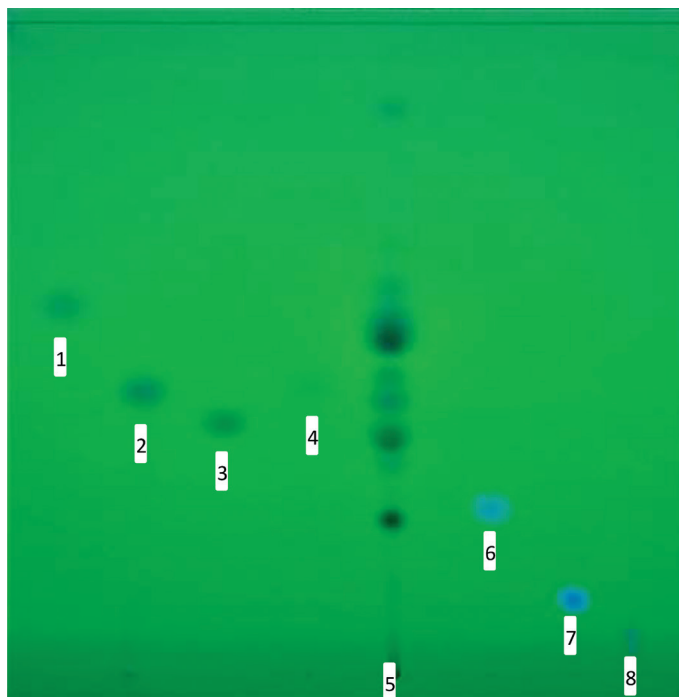


Рис. 2. Тонкослойная хроматограмма содержимого секреторных структур корней борщевика Сосновского: 1 – ангелицин, 2 – ксантотоксин, 3 – бергаптен, 4 – псорален, 5 – экстракт секрета, 6 – умбелиферон, 7 – скополетин, 8 – эскулетин

Fig. 2. Thin-layer chromatography of contents the secretory structures in roots of *Heracleum sosnowskyi* Manden.: 1 – angelicin, 2 – ksanototoksin, 3 – bergapten, 4 – psoralen, 5 – extract of latex, 6 – umbeliferone, 7 – skopoletin, 8 – eskuletin

Список использованных источников

1. Клепов, И. Д. Пузыристые дерматиты от лугового растения борщевика / И. Д. Клепов // Вестн. дерматол. и венерол. – 1960. – Т. 3. – С. 55–56.
2. Kasperkiewicz, K. Sunscreening and photosensitizing properties of coumarins and their derivatives / K. Kasperkiewicz, A. Erkiert-Polguj, E. Budzisz // Lett. Drug Design Discovery. – 2016. – Vol. 13, N 5. – P. 465–474. <https://doi.org/10.2174/1570180812666150901222106>
3. Emami, S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry / S. Emami, S. Dadashpour // Eur. J. Med. Chem. – 2015. – Vol. 102. – P. 611–630. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.033>

4. Recent developments of C-4 substituted coumarin derivatives as anticancer agents / J. Dandriyal [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 119. – P. 141–168. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.087>
5. Antioxidant activity of coumarins / Y. Al-Majedy [et al.] // *System. Rev. Pharm.* – 2017. – Vol. 8, N 1. – P. 24–30. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.6>
6. Recent developments of coumarin-containing derivatives and their anti-tubercular activity / Y. Q. Hu [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 136. – P. 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.004>
7. Coumarin derivatives as monoamine oxidase B inhibitors with antiparkinsonian like properties / P. Olaya [et al.] // *FarmaJournal.* – 2019. – Vol. 4, N 1. – P. 218.
8. Coumarin: A natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds / A. Stefanachi [et al.] // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23, N 2. – P. 250. <https://doi.org/10.3390/molecules23020250>
9. Corsi, G. Secretory Structures and Localization of Alkaloids in *Conium maculatum* L. (Apiaceae) / G. Corsi, D. Biasci // *Ann. Botany.* – 1998. – Vol. 81, N 1. – P. 157–162. <https://doi.org/10.1006/anbo.1997.0547>
10. Mu, Y. Comparative anatomy on structure and distribution of secretory canals in different organs of *Cryptotaenia japonica* Hassk. (Apiaceae) / Y. Mu, Q. X. Liu // *J. Plant Resources Environment.* – 2009. – Vol. 18, N 2. – P. 1–8.
11. A new diagnostic character in the roots of the genus *Grammosciadium* DC. (Apiaceae) / F. Ulusoy [et al.] // *Phytotaxa.* – 2016. – Vol. 292, N 2. – P. 150–160. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.292.2.2>
12. Bercu, R. Histoanatomy of vegetative organs with bioactive principles in *Apium graveolens* L. var. *Rapaceum* (Mill.) *gaud.* (Apiaceae) / R. Bercu, M. Fagaras // *Ann. West Univ. Timisoara. Biology series.* – 2014. – Vol. 17, N 1. – P. 45–48.
13. Lux, A. Structural and physiological characteristics of the tap root of *Smyrniun perfoliatum* L. (Apiaceae) / A. Lux, E. Masarovicova, R. Olah // *Structure and Function of Roots : Proc. of the Fourth Int. symp. on structure and function of roots, June 20–26, 1993, Stará Lesná, Slovakia / ed. : F. Baluška [et al.].* – Springer, Dordrecht, 1995. – P. 99–105.
14. Манденова, И. П. Борщевик – *Heracleum* L. / И. П. Манденова // *Флора СССР : в 29 т. / гл. ред. В. Л. Комаров.* – Ленинград, 1951. – Т. 17. – С. 223–259.
15. Сацыперова, И. Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения: перспективы использования в народном хозяйстве / И. Ф. Сацыперова. – Ленинград : Наука, 1984. – 218 с.
16. Сандина, И. Б. Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), его биология и опыт выращивания в Ленинградской области : автореф. дис. ... канд. биол. наук / И. Б. Сандина ; Ботан. ин-т им. В. Л. Комарова. – Л., 1959. – 18 с.
17. Шумова, Э. М. Изучение онтогенетического морфогенеза борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) и борщевика Мантегацци (*Heracleum mantegazzianum* Somm. et Lev.) в связи с введением в культуру : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Э. М. Шумова ; Моск. ордена Ленина и ордена Тр. Кр. Знамени с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева. – М., 1970. – 15 с.
18. Бетехтина, А. А. Строение корней свидетельствует о способности *Heracleum sosnowskyi* быстро поглощать ресурсы при оптимальных почвенных условиях / А. А. Бетехтина, А. О. Сергиенко, Д. В. Веселкин // *Изв. Рос. акад. наук. Сер. биол.* – 2018. – № 3. – С. 281–289.
19. Anatomical studies on medicinal part of *Heracleum* / H. E. Zhao-Ying [et al.] // *J. Xihua Teachers College (Natural Science).* – 2004. – N 1. – P. 63–67.
20. Денисова, Г. А. Терпеноидосодержащие структуры растений / Г. А. Денисова. – М. : Наука, 1982. – С. 10–32.
21. Денисова, Г. А. Методика выделения секрета из эфирномасличных вместилищ растений / Г. А. Денисова // *Раст. ресурсы.* – 1969. – Т. 5. – С. 458–463.

References

1. Klepov I. D. Bubbling dermatitis from a meadow Hogweed plant. *Vestnik dermatologii i venerologii* [Bulletin of dermatology and venereology], 1960, vol. 3, pp. 55–56 (in Russian).
2. Kasperkiewicz K., Erkiert-Polguj A., Budzisz E. Sunscreening and photosensitizing properties of coumarins and their derivatives. *Letters in Drug Design and Discovery*, 2016, vol. 13, no. 5, pp. 465–474. <https://doi.org/10.2174/1570180812666150901222106>
3. Emami S., Dadashpour S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 102, pp. 611–630. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.033>
4. Dandriyal J., Singla R., Kumar M., Jaitak V. Recent developments of C-4 substituted coumarin derivatives as anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 119, pp. 141–168. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.087>
5. Al-Majedy Y., Al-Amiery A., Kadhum A. A., BakarMohamad A. Antioxidant activity of coumarins. *Systematic Reviews in Pharmacy*, vol. 8, no. 1, pp. 24–30. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.6>
6. Hu Y. Q., Xu Z., Zhang S., Wu X., Ding J. W., Lv Z. S., Feng L. S. Recent developments of coumarin-containing derivatives and their anti-tubercular activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, vol. 136, pp. 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.004>
7. Olaya P., Viña D., Lopez J. L., Guerrero M. Coumarin derivatives as monoamine oxidase B inhibitors with antiparkinsonian like properties. *FarmaJournal*, 2019, vol. 4, no. 1, p. 218.
8. Stefanachi A., Leonetti F., Pisani L., Catto M., Carotti A. Coumarin: a natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 2, p. 250. <https://doi.org/10.3390/molecules23020250>
9. Corsi G., Biasci D. Secretory structures and localization of alkaloids in *Conium maculatum* L. (Apiaceae). *Annals of Botany*, 1998, vol. 81, no. 1, pp. 157–162. <https://doi.org/10.1006/anbo.1997.0547>
10. Mu Y., Liu Q. X. Comparative anatomy on structure and distribution of secretory canals in different organs of *Cryptotaenia japonica* Hassk. (Apiaceae). *Journal of Plant Resources and Environment*, 2009, vol. 18, no. 2, pp. 1–8.

11. Ulusoy F., İdman D. Ö. M., Karakaya M. A., Bani B. A new diagnostic character in the roots of the genus *Grammoscadium* DC. (Apiaceae). *Phytotaxa*, 2016, vol. 292, no. 2, pp. 150–160. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.292.2.2>
12. Bercu R., Fagaras M. Histoanatomy of vegetative organs with bioactive principles in *Apium graveolens* L. var. *Rapaceum* (mill.) gaud. (Apiaceae). *Annales of West University of Timisoara. Biology series*, 2014, vol. 17, no. 1, pp. 45–48.
13. Lux A., Masarovicova E., Olah R. Structural and physiological characteristics of the tap root of *Smyrniun perfoliatum* L. (Apiaceae). *Structure and Function of Roots: Proceedings of the Fourth International symposium on structure and function of roots, June 20–26, 1993, Stará Lesná, Slovakia*, 1995, pp. 99–105.
14. Mandenova I. P. A Hogweed – *Heracleum* L. *Flora of the USSR. Vol. 17*. Leningrad, 1951, pp. 223–259 (in Russian).
15. Satsyperova I. F. *Hogweeds of the USSR flora – new fodder plants: prospects for use in the national economy*. Leningrad, Nauka Publ., 1984. 218 p. (in Russian).
16. Sandina I. B. *Hogweed Sosnowski (Heracleum sosnowskyi Manden.)*, his biology and growing experience in the Leningrad region. Abstract of Ph. D. diss. Leningrad, 1959. 18 p. (in Russian).
17. Shumova E. M. *The study of ontogenetic morphogenesis of Sosnovsky hogweed (Heracleum sosnowskyi Manden.) and Mantegazzi hogweed (Heracleum mantegazzianum Somm. et Lev.) in connection with the introduction into the culture*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 1970. 15 p. (in Russian).
18. Betekhtina A. A., Sergienko A. O., Veselkin D. V. The root structure indicates the ability of *Heracleum sosnowskyi* to quickly absorb resources under optimal soil conditions. *Izvestiya Rossiiskoi akademii nauk. Seriya biologicheskaya* [Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological series], 2018, no. 3, pp. 281–289 (in Russian).
19. Zhao-Ying H. E., Qiao-ying Z. H. A. N. G., Yong-hong M. A., An-quan M. I. A. O. Anatomical studies on medicinal part of *Heracleum*. *Journal of Xihua Teachers College (Natural Science)*, 2004, no. 1, pp. 63–67.
20. Denisova G. A. *Structures of terpenoids in plants*. Moscow, Nauka Publ., 1982, pp. 10–32 (in Russian).
21. Denisova G. A. Method for secretion isolation from essential oil containers of plants. *Rastitel'nye resursy* [Plant resources], 1969, vol. 5, pp. 458–463 (in Russian).

Информация об авторах

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

Усик Анастасия Викторовна – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: jalja-93@mail.ru

Information about the authors

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

Anastasia W. Usik – Postgraduate student, Junior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jalja-93@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 576.895.1/599.742.1
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-76-81>

Поступила в редакцию 22.05.2019
Received 22.05.2019

И. С. Юрченко, Е. И. Анисимова

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

ВИДОВОЙ СОСТАВ ГЕЛЬМИНТОВ ЕНОТОВИДНОЙ СОБАКИ В УСЛОВИЯХ ПОЛЕССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО РАДИАЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Аннотация. В ходе исследований установлено, что енотовидная собака является дефинитивным хозяином эпидемически и эпизоотически значимых видов гельминтов, вследствие чего на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника формируются природные очаги аляриоза, трихинеллеза, спарганоза, описторхоза, парагонимоза и др.

Ключевые слова: Беларусь, дефинитивный хозяин, эпидемические и эпизоотические виды гельминтов

Для цитирования: Юрченко, И. С. Видовой состав гельминтов енотовидной собаки в условиях Полесского государственного радиационно-экологического заповедника / И. С. Юрченко, Е. И. Анисимова // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 76–81. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-76-81>

Inna S. Yurchenko, Elena I. Anisimova

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

SPECIAL COMPOSITION OF HELMINTS OF THE RACCOON DOG IN THE POLESIE RADIOECOLOGICAL RESERVE

Abstract. It has been established that the racoon dog is a definitive host of epidemic and epizootic significance types of helminths, as a result of which on the territory of the Poles State Radiation and Environmental Reserve formed natural pockets of alariosis, thrichinellosis, sparganosis, opistorhosis, paragonimosis, etc.

Keywords: Belarus, definitive host, epidemic and epizootic species of helminths

For citation: Yurchenko I. S., Anisimova E. I. Special composition of helminths of the racoon dog in the Polesie Radioecological Reserve. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 76–81 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-76-81>

Введение. Енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides*) как хищник занимает самый высокий уровень экологической пирамиды. При этом гельминты, являясь представителями фаунистического компонента биоценоза, тесным образом связаны с экосистемой своих хозяев (дефинитивных и промежуточных). На конкретной территории обнаруживается не более 15–20 видов гельминтов, что обусловлено экологическими особенностями каждого региона. Паразито-хозяинные системы, формирующиеся и развивающиеся в конкретных биоценозах, связаны с последними сложными и многообразными взаимоотношениями. Как неотъемлемый компонент природных экосистем енотовидная собака участвует в процессе циркуляции возбудителей большинства природно-очаговых инвазий, что способствует поддержанию высокого уровня возбудителей.

Территория Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (ПГРЭЗ) является уникальной, и в связи с прекращением хозяйственной деятельности человека здесь происходят естественные процессы восстановления трансформированных ранее экосистем. На территории ПГРЭЗ отмечена высокая численность енотовидной собаки [1], служащей резервуаром и переносчиком инвазионных болезней животных и человека. В ходе исследования определенных видов гельминтов на данной территории выявлены эхинококковые пузыри (цисты), которые паразитируют в печени и легких диких копытных животных, оказывая патогенное действие

и вызывая патолого-морфологические изменения в этих органах, что существенно влияет на состояние крови [2]. Обнаружен природный очаг трихинеллеза, главным резервуаром которого являются плотоядные (енотовидная собака, волк, лисица) [3, 4]. Исследованы случаи наличия описторхоза [4, 5].

Цель данной работы – определение современного состояния зараженности енотовидной собаки (видового состава гельминтов и некоторых аспектов их экологии и эпизоотологии) как дополнительного дефинитивного хозяина зоонозных гельминтозов, где данный интродуцированный вид выступает в роли основного носителя.

Материалы и методы исследования. В течение 2016–2017 гг. паразитологическому вскрытию было подвергнуто 55 особей енотовидной собаки. Для полного гельминтологического обследования использованы стандартные методики вскрытия [6, 7] и определения [8]. У всех обследованных животных проведена трихинеллоскопия диафрагм и межреберных мышц. Для проверки достоверности различных уровней зараженности животных гельминтами использовали G-тест.

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования выявили инвазированность всех особей енотовидной собаки гельминтами. Видовое богатство гельминтов состояло из 15 видов, относящихся к 4 классам, из которых наибольшее число видов имеют классы Trematoda и Nematoda (см. таблицу). При этом установлено, что трематодами инвазировано 95 % енотовидных собак, нематодами – 29 %, цестодами – 19 %, акантоцефалами – 54 %. В 87,8 % случаев нами была отмечена полиинвазия видами паразитов в различных сочетаниях. Наиболее часто встречались *Alaria alata* и *Echinochasmus perfoliatus*, экстенсивность инвазии которых составила 92,7 и 81,8 % соответственно. Встречаемость трематоды *Euparyphium melis* – 25,5 %, *Paragonimus westermani* – 5,5 %. Экстенсивность инвазии скребнем *Macracanthorhynchus catulinus* составила 56,4 %, нематодой *Trichinella spiralis* – 27,3, цестодой *Spirometra erinacei-europei* – 16,4 %. Реже регистрировались *Capillaria putorii* и *Diphyllobothrium latum* (3,6 %), а *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, *Opisthorchis felineus*, *Ancylostoma caninum* зарегистрированы единично (по 1,8 %). Интенсивность инвазии енотовидной собаки различными видами гельминтов также была различной. Наибольшая интенсивность отмечена у *A. alata* – до 4026 экз. (см. таблицу).

**Показатели инвазированности особей енотовидной собаки (n = 55) гельминтами
(сентябрь 2016 г. – ноябрь 2017 г.)**

Indicators of invasion of raccoon dogs (n = 55) with helminths (September 2016 – November 2017)

Вид гельминтов	Частота встречаемости, %	Интенсивность инвазии, min–max (X)
<i>Класс Trematoda Rudolphi, 1808</i>		
<i>Alaria alata</i> (Goeze, 1782)	92,7	18–4026 (227,55)
<i>Echinochasmus perfoliatus</i> (Ratz, 1908)	81,8	3–1860 (124,58)
<i>Euparyphium melis</i> (Scharank, 1788)	25,5	1–345 (57,14)
<i>Paragonimus westermani</i> (Kerbert, 1878)	5,5	2–7 (4,33)
<i>Opisthorchis felineus</i> (Rudolphi, 1884)	1,8	1
<i>Metorchis bilis</i> (Braun, 1790)	1,8	1
<i>Класс Cestoda Rudolphi, 1808</i>		
<i>Diphyllobothrium latum</i> (L., 1758)	3,6	2 (2)
<i>Spirometra erinacei-europei</i> (Rudolphi, 1819)	16,4	5–45 (16,4)
<i>Класс Nematoda Rudolphi, 1808</i>		
<i>Trichinella spiralis</i> (Owen, 1835)	27,3	2–89 (18,6)
<i>Ancylostoma caninum</i> (Ercolani, 1859)	1,8	1
<i>Uncinaria stenocephalata</i> (Railliet, 1854)	1,8	4
<i>Capillaria putorii</i> (Rudolphi, 1819)	3,6	1
<i>Strongiloides vulpis</i> (Petrov, 1941)	1,8	1
<i>Класс Acanthocephala Rudolphi, 1801</i>		
<i>Macracanthorhynchus catulinus</i> Kostylew, 1927	56,36	1–43 (6,97)
<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> (Pallas, 1781)	3,63	4–5 (4,5)

В юго-западной части республики функционируют очаги многокамерного эхинококкоза, поэтому из списка хозяев не исключают енотовидную собаку [9, 10]. Еще одним потенциальным заболеванием человека в Беларуси считается цистицеркоз лонгикольный, обнаруженный также у енотовидной собаки в Брестской и Гомельской областях [11].

Вопрос о патогенном воздействии гельминтов на организм хозяина имеет важное практическое значение, так как среди гельминтов енотовидной собаки имеется большое число видов, являющихся патогенными и оказывающими влияние на состояние хозяина [5, 12]. Среди зарегистрированных в Беларуси гельминтов енотовидных собак к таким видам относят *E. melis*, *C. putorii*, *S. erinacei*, *C. mucronata*, *T. spiralis*, *M. catulinus* и др. От локализации паразита в значительной мере зависит степень патогенности. Если паразиты локализуются в органах, сообщающихся с внешней средой, то их патогенность часто ограничивается механическим воздействием, так как токсические продукты обмена веществ быстро удаляются. Для трематод, цестод и акантоцефал, которые поселяются в пищеварительном тракте или печени (*E. melis*, *M. catulinus*, *M. hirudinaceus* и др.), жизненное значение имеют органы прикрепления, при этом в полость присоски втягиваются значительные участки слизистой, что приводит к точечным кровоизлияниям в стенке кишечника, вызывая, кроме механических повреждений, общую реакцию организма хозяина. Локализация гельминтов в изолированных от внешней среды органах (*M. catulinus*, *S. erinacei* и др.) нередко приводит к тяжелым последствиям. Виды *E. melis*, *C. putorii*, *M. catulinus*, *M. hirudinaceus*, вызывающие заболевания желудочно-кишечного тракта, регистрировали у енотовидной собаки в 25,5; 3,6; 56,4 и 3,6 % случаев соответственно. Некоторые из патогенных видов гельминтов (например, *A. alata*) встречались достаточно часто. Особенно сильный болезнетворный эффект наблюдался в случаях аберрантной локализации.

Из 15 видов гельминтов, зарегистрированных в популяции енотовидной собаки на территории Беларуси, 8 имеют эпизоотическое и эпидемическое значение. Среди гельминтозных заболеваний, общих для человека и животных, особое место всегда отводится трихинеллезу. Нематода, вызывающая данное заболевание, поражает более 60 видов домашних и диких животных. Половозрелые особи локализуются в тонком кишечнике хозяина, личинки – в мышечной ткани.

Ранее в природных очагах на юге республики [13] основное ядро в структуре паразитарной системы *T. spiralis* формировала лисица, а волк в тот период, как и енотовидная собака, являлись дополнительным элементом этого ядра. Позже, когда численность волка на территории Полесского заповедника резко возросла, основное место в этой системе занял волк [14]. Наиболее высокая экстенсивность трихинеллезной инвазии выявлена у енотовидных собак – 27,3 % (интенсивность инвазии – 4–19 личинок на компрессорий). Таким образом, на современном этапе природный очаг трихинеллезной инвазии в равной степени формируют енотовидная собака, лисица и волк. Инвазированность данных млекопитающих достоверно не различалась ($G \leq 1,89$; $p \geq 0,2$). Больше всего зараженных особей енотовидных собак выявлено в Бабчинском (17), Крюковском (10) и Радинском (8) лесничествах [15].

Динамика встречаемости трихинеллеза енотовидных собак в период 2005–2012 гг. варьировалась. У енотовидной собаки в 2005–2007 гг. инвазированность возрастала, в 2008–2010 гг. она имела постоянно высокий уровень, а затем (в 2011–2012 гг.) ее значения несколько снизились [4]. Зараженность енотовидной собаки в ПГРЭЗ выше таковой в Национальном парке «Беловежская пуща» [4].

На столь высокие показатели зараженности енотовидной собаки в ПГРЭЗ оказывает влияние также высокая численность и плотность ее популяции – 270–300 особей при плотности 1,3–1,4 особей/1000 га [1].

Трематода *Alaria alata* имеет широкое распространение и поражает ценные виды пушных зверей (вызывает аляриоз). Половозрелый паразит локализуется в кишечнике, но, прежде чем достигнуть его, мигрирует из толщи стенки желудка хищника через полость тела в легкие и затем снова в пищеварительный тракт (двенадцатиперстную кишку). Паразит может вызвать у человека мезоцеркарный аляриоз с поражением подкожной жировой клетчатки, глаз и мозга [15]. Данный вид трематод доминировал у енотовидной собаки (92,7 % случаев). Другой вид класса трематод – *Paragonimus westermani* является возбудителем парагонимоза и вызывает тяжелое

воспаление кишечника. Данный вид гельминтов зарегистрирован впервые на территории ППРЗ. Трематоды характеризуются весьма выраженным и эволюционно закрепленным признаком – полигостальностью. Эта особенность определяет наличие у них широкого спектра дефинитивных хозяев.

Описторхоз – инвазионное заболевание плотоядных и человека, вызываемое трематодой *Opisthorchis felineus*, паразитирующий в желчных ходах печени, желчном пузыре, иногда – в протоках поджелудочной железы. Согласно эпизоотической номенклатуре, описторхоз относится к гидротриксенным гельминтозам. Продолжительность жизни трематод в организме плотоядных животных достигает 6–8 лет, у человека – 10–40 лет [15].

Плотоядные животные и человек заражаются при употреблении сырой, слабomороженной и вяленой рыбы, инвазированной метацеркариями. Из кишечника дефинитивного хозяина описторхис проникает через желчные и поджелудочный протоки в печень и поджелудочную железу, где через 21–28 сут достигают половой зрелости [4]. Нами данный вид гельминта зарегистрирован у 9 видов рыб. Паразиты механически повреждают стенки протоков, затрудняют ток желчи и секрета поджелудочной железы. В желчных протоках создаются условия для вторичной бактериальной инфекции. Механическое и токсическое воздействие описторхов при интенсивной и продолжительной инвазии ведет к хроническому воспалению и перерождению (жировому и белковому) паренхимы печени и поджелудочной железы [15]. Уровень встречаемости *O. felineus* у енотовидной собаки низкий и угрозы в данный момент не представляет.

Личиночная стадия цестоды *Spirometra erinacei-europaei* паразитирует, вызывая спарганоз, в межмышечной соединительной ткани кабана, редко – домашней свиньи, а также целого ряда кунных и енотовидной собаки [2]. У окончательных хозяев (собачьих и кошачьих) паразит локализуется в кишечнике. У дополнительных хозяев, в число которых входят лягушки, ужи, полозы, грызуны, куньи, кабаны и енотовидная собака, в мускулатуре и подкожной клетчатке развиваются плероцеркоиды. Результаты исследования енотовидной собаки выявили зараженность данным гельминтом на уровне 16,4 %, что указывает на ее роль в поддержании данной инвазии.

Большинство видов гельминтов, имеющих эпидемическое и эпизоотическое значение, в условиях обитания на естественных территориях имеют низкие показатели встречаемости и обилия. Широкое распространение некоторых инвазий у диких животных неслучайно: в результате снятия антропогенной нагрузки изменились экологические условия мест обитания различных видов животных.

Заключение. Таким образом, выполненные исследования позволили выявить, что енотовидная собака является дефинитивным хозяином эпидемически и эпизоотически значимых видов гельминтов, вследствие чего на территории заповедника формируются природные очаги аляриоза, трихинеллеза, спарганоза, описторхоза, парагонимоза и других гельминтозов.

Список использованных источников

1. Кучмель, С. В. Видовое разнообразие млекопитающих отрядов Насекомоядные (Insectivora), Зайцеобразные (Lagomorpha), Хищные (Carnivora), Грызуны (Rodentia) и Парнокопытные (Artiodactyla) Полесского государственного радиационно-экологического заповедника / С. В. Кучмель // Фаунистические исследования в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике : сб. науч. тр. / Деп. по ликвидации последствий катастрофы на Чернобыл. АЭС МЧС Респ. Беларусь, Полес. гос. радиац.-экол. заповедник. – Гомель, 2008. – С. 38–64.
2. Пенькевич, В. А. Паразиты дикой свиньи Белоруссии / В. А. Пенькевич // Ветеринария. – 1999. – № 9. – С. 30–33.
3. Пенькевич, В. А. Трихинеллез диких млекопитающих в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике / В. А. Пенькевич, Е. И. Анисимова // Вес. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2013. – № 3. – С. 101–104.
4. Юрченко, И. С. Встречаемость некоторых очаговых заболеваний у диких животных в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике / И. С. Юрченко, Е. И. Анисимова // Современные проблемы общей и прикладной паразитологии : материалы XI науч.-практ. конф., посвящ. памяти проф. В. А. Ромашова, 26 окт. 2017 г., г. Воронеж / М-во природ. ресурсов и экологии РФ, ФГБУ «Воронеж. гос. заповедник». – Воронеж, 2017. – С. 213–216.
5. The impact of American mink *Mustela vison* and European mink *Mustela lutreola* on water voles *Arvicola terrestris* in Belarus / D. W. Macdonald [et al.] // *Ecography*. – 2002. – Vol. 25, N 3. – P. 295–302. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2002.250306.x>
6. Ивашкин, В. М. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих / В. М. Ивашкин, В. Л. Контри-мачус, Н. С. Назарова. – М. : Наука, 1971. – 123 с.

7. Методические указания к лабораторно-практическим занятиям по специализации «Паразитарные болезни мелких домашних и промысловых животных» / сост. : Е. М. Романова [и др.]. – Ульяновск : Ульян. гос. с.-х. акад., 2003. – 108 с.
8. Козлов, Д. П. Определитель гельминтов хищных млекопитающих СССР / Д. П. Козлов. – М. : Наука, 1977. – 275 с.
9. Пенькевич, В. А. Эхинококковая инвазия у диких животных зоны отчуждения Чернобыльской АЭС / В. А. Пенькевич, Е. И. Анисимова // Природа Полесья: исследование и охрана : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 15-летию Ривненского природного заповедника и 10-летию Рамсарского угодья Торфяно-болотный массив «Переброды». – Сарны, 2014. – С. 542–545.
10. Шималов, В. В. Эхинококкоз многокамерный в юго-западной Беларуси / В. В. Шималов // Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики паразитарных заболеваний : тр. VIII Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол. : В. Я. Бекиш [и др.]. – Витебск, 2012. – С. 205–208.
11. Шималов, В. В. Цистицеркоз лонгикольный – потенциальное заболевание человека в Беларуси / В. В. Шималов, В. Т. Шималов // Эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика паразитарных заболеваний человека : тр. III Междунар. науч.-практ. конф. / Витеб. гос. мед. ун-т ; под ред. О.-Я. Л. Бекиша. – Витебск, 2002. – С. 150–154.
12. Любашенко, С. Я. Болезни пушных зверей / С. Я. Любашенко, А. М. Петров. – М. : Сельхозиздат, 1962. – 216 с.
13. Бекиш, О.-Я. Л. Эпидемиолого-эпизоотологическая характеристика трихинеллеза в Белоруссии / О.-Я. Бекиш, Т. М. Одинцова // Актуальные вопросы гигиены и эпидемиологии в Белоруссии : материалы VIII объедин. съезда гигиенистов и эпидемиологов, Пинск, 26–27 сент. 1991 г. : в 2 т. / Белорус. науч. об-во гигиенистов и санитар. врачей [и др.] ; редкол. : П. Г. Рытик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 1991. – Т. 2 : Эпидемиологический надзор за важнейшими инфекционными и паразитарными заболеваниями. – С. 13–15.
14. Анисимова, Е. И. Формирование гельминтоценозов волка (*Canis lupus*) и лисицы (*Vulpes vulpes*) в ландшафтных подзонах Беларуси / Е. И. Анисимова // Вес. Акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2003. – № 4. – С. 100–107.
15. Юрченко, И. С. Встречаемость зоонозных гельминтозов в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике / И. С. Юрченко, Е. И. Анисимова // Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики паразитарных заболеваний : тр. X Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол. : В. Я. Бекиш [и др.]. – Витебск, 2016. – С. 227–230.
16. Анисимова, Е. И. Инвазированность трематодами *Opistorchis felineus* дефинитивных и промежуточных хозяев в Полесском радиационно-экологическом заповеднике / Е. И. Анисимова, В. А. Пенькевич // Вес. НАН Беларуси. Сер. біял. навук. – 2012. – № 4. – С. 117–120.

References

1. Kuchmel' S. V. Species diversity of mammals of the orders Insectivorous (Insektivora), Hare (Lagomorpha), Predatory (Carnivora), Rodents (Rodentia) and Artiodactyls (Artiodactyla) of the Polesky State Radiation and Ecological Reserve. *Faunistic studies in the Polesky State Radiation-Ecological Reserve: a collection of scientific articles*. Gomel', 2008, pp. 38–64 (in Russian).
2. Pen'kevich V. A. Parasites of the Belarus wild pig. *Veterinariya* [Veterinary science], 1999, no. 9, pp. 30–33 (in Russian).
3. Pen'kevich V. A., Anisimova E. I. Trichinosis of wild mammals in the Polesye State Radiation-Ecological Reserve. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2013, no. 3, pp. 101–104 (in Russian).
4. Yurchenko I. S., Anisimova E. I. Occurrence of some focal diseases in wild animals in the Polesye State Radiation-Ecological Reserve. *Sovremennye problemy obshchei i prikladnoi parazitologii: materialy XI nauchno-prakticheskoi konferentsii pamyati professora V. A. Romashova (26 oktyabrya 2017 goda, Voronezh)* [Modern problems of general and applied parasitology: materials of the XI scientific-practical conference in memory of Professor V. A. Romashov (October 26, 2017, Voronezh)]. Voronezh, 2017, pp. 213–216 (in Russian).
5. Macdonald D. W., Sidorovich V. E., Anisimova E. I., Sidorovich N. V., Johnson P. J. The impact of american mink *Mustela vison* and european mink *Mustela lutreola* on water voles *Arvicola terrestris* in Belarus. *Ecography*, 2002, vol. 25, no. 3, pp. 295–302. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2002.250306.x>
6. Ivashkin V. M., Kontrimavichus V. L., Nazarova N. S. *Methods for the collection and study of helminths of terrestrial mammals*. Moscow, Nauka Publ., 1971. 123 p. (in Russian).
7. Romanova E. M., Klimin V. N., Doctorov Yu. S., Indiryakova T. A. *Guidelines for laboratory and practical training on the specialization "Parasitic diseases of small domestic and commercial animals"*. Ulyanovsk, Ulyanovsk State Agricultural Academy, 2003. 108 p. (in Russian).
8. Kozlov D. P. *The determinant of the worms of predatory mammals of the USSR*. Moscow, Nauka Publ., 1977. 275 p. (in Russian).
9. Pen'kevich V. A., Anisimova E. I. Echinococcosis invasion in wild animals of the exclusion zone of the Chernobyl nuclear power plant. *Priroda Poles'ya: issledovanie i okhrana: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 15-letiyu Rivnenskogo prirodnogo zapovednika i 10-letiyu Ramsarskogo ugod'ya Torfyano-bolotnyi massiv "Perebrody"* [The nature of woodland: research and conservation: materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 15th anniversary of the Rivne natural reserve and the 10th anniversary of the Ramsar site Peat-bog massif "Perebrody"]. Sarney, 2014, pp. 542–545 (in Russian).
10. Shimalov V. V. Multi-chamber echinococcosis in south-western Belarus. *Sovremennye aspekty patogeneza, kliniki, diagnostiki, lecheniya i profilaktiki parazitarnykh zabolovaniy: trudy VIII Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem* [Current aspects of pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment and prevention of parasitic

diseases: proceedings of the VIII Republican scientific and practical conference with international participation]. Vitebsk, 2012, pp. 205–208 (in Russian).

11. Shimalov V. V., Shimalov V. T. Cysticercosis longikikolny – a potential human disease in Belarus. *Epidemiologiya, diagnostika, lechenie i profilaktika parazitarnykh zbolevanii cheloveka: trudy III Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* [Epidemiology, diagnosis, treatment and prevention of human parasitic diseases: proceedings of the III International scientific and practical conference]. Vitebsk, 2002, pp. 150–154 (in Russian).

12. Lyubashenko S. Ya., Petrov A. M. *Diseases of fur-bearing animals*. Moscow, Sel'khozizdat Publ., 1962. 216 p. (in Russian).

13. Bekish, O.-Y. L., Odintsova T. M. Epidemiological and epizootological characteristics of trichinosis in Belarus. *Aktual'nye voprosy gigieny i epidemiologii v Belorussii: materialy VIII ob'edinennogo s'ezda gigienistov i epidemiologov (g. Pinsk, 26–27 sentyabrya 1991 goda). Tom 2* [Actual issues of hygiene and epidemiology in Belarus: materials of the VIII Joint congress of hygienists and epidemiologists (Pinsk, September 26–27, 1991). Vol. 2]. Pinsk, 1991, pp. 13–15 (in Russian).

14. Anisimova E. I. Formation of the worm's helminthocenosis (*Canis lupus*) and the fox (*Vulpes vulpes*) in the landscape subzones of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2003, no. 4, pp. 100–107 (in Russian).

15. Yurchenko I. S., Anisimova E. I. The occurrence of zoonotic helminthiases in the Polesye State Radiation-Ecological Reserve. *Sovremennye aspekty patogeneza, kliniki, diagnostiki, lecheniya i profilaktiki parazitarnykh zbolevanii: trudy X Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem* [Current aspects of pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment and prevention of parasitic diseases: proceedings of the X Republican scientific and practical conference with international participation]. Vitebsk, 2016, pp. 227–230 (in Russian).

16. Anisimova E. I., Pen'kevich V. A. Trematodes *Opistorchis felineus* invasion of definitive and intermediate hosts in the Polesky Radiation-Ecological Reserve. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2012, no. 4, pp. 117–120 (in Russian).

Інфармацыя аб аўторах

Юрченко Инна Станиславовна – аспирант. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: i.yurchenko.x@mail.ru

Анисимова Елена Ивановна – д-р биол. наук, профессор. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anis-zoo@yandex.ru

Information about the authors

Inna S. Yurchenko – Postgraduate student. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: i.yurchenko.x@mail.ru

Elena I. Anisimova – Ph. D. (Biol.), Professor. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anis-zoo@yandex.ru

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 582.(875.2)
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-82-87>

Поступила в редакцию 21.08.2019
Received 21.08.2019

А. М. Бексултанова, С. Н. Мосолова

Институт биологии НАН Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика

ПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ХОЗЯЙСТВЕННО ЗНАЧИМЫХ ГРУПП РАСТЕНИЙ БАСЕЙНА РЕКИ ДЖУМГАЛ

Аннотация. В бассейне р. Джумгал идентифицировано 223 вида фитопатогенных грибов и грибоподобных организмов на 76 видах сосудистых растений из 125 родов. Показано, что фитопатогены распределены по 8 хозяйственно полезным группам растений: кормовые, лекарственные, алкалоидные, медоносные, эфиромасличные, красильные, декоративные и сорные растения.

Ключевые слова: фитопатогенные микромицеты, хозяйственно значимые растения, грибы, грибоподобные организмы

Для цитирования: Бексултанова, А. М. Патогенные микромицеты хозяйственно значимых групп растений бассейна реки Джумгал / А. М. Бексултанова, С. Н. Мосолова // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 82–87. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-82-87>

Ayzada M. Beksultanova, Svetlana N. Mosolova

Institute of Biology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic

PATHOGENIC MICROMYCETES OF THE JUMGAL RIVER BASIN BY GROUPS OF ECONOMICALLY USEFUL PLANTS

Abstract. In the Jumgal River basin have been identified 223 species of phytopathogenic fungi and fungi-like organisms on 76 species of vascular plants from 125 genera. The distribution of phytopathogens in 8 economically useful plant groups was shown: forage, medicinal and alkaloid, honey, feeding, essential oil, dyeing, ornamental and weed plants.

Keywords: phytopathogenic micromycetes, economically significant plants, fungi, fungi-like organisms

For citation: Beksultanova A. M., Mosolova S. N. Pathogenic micromycetes of the Jumgal River basin by groups of economically useful plants. *Vesti Natsyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 82–87 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-82-87>

Введение. К бассейну р. Джумгал относится замкнутая Джумгальская котловина со склонами окружающих ее хребтов (северная часть Тянь-Шаня в Киргизии) [1]. Климат здесь резко континентальный, засушливый, отличается очень неравномерным распределением тепла и влаги. В течение года более продолжителен холодный период. Осадков выпадает мало: от 200–300 мм во впадинах до 400–500 мм на наветренных склонах гор. Причем с запада на восток наблюдается тенденция к их уменьшению. Большая часть осадков приходится на май–июль [2]. Изучаемый нами район является животноводческим, хозяйства используют корма с естественных пастбищ. В связи с различными сроками вегетации растительного покрова выпас скота на пастбищах проводится в строго определенные для каждого типа растительности сезоны. Склоны южной экспозиции, остающиеся зимой почти без снега, а весной рано покрывающиеся ковром трав, благоприятны для зимнего и весеннего выпаса скота. Северные склоны служат хорошими позднелетними и летними пастбищами.

Значительную долю травостоя на лугах составляют злаки: ежа сборная, виды мятликов, костра, пырея, овсянницы, типчака. Другая ценная группа – бобовые, к которым относят виды люцерны, клевера, астрагала, чины, вики и др., в том числе посевные – люцерну и эспарцет. Третья группа – это полыни из семейства сложноцветных. Одним из факторов, влияющих на развитие луговых и посевных кормовых растений, являются многочисленные грибные болезни, вызывающие прежде-

временное усыхание и отмирание растений и снижающие урожай травостоя, что сказывается на их питательных и вкусовых качествах [3].

Материалы и методы исследования. Специальных исследований микобиоты бассейна р. Джумгал ранее не проводилось. В 2011–2018 гг. нами впервые было проведено микологическое обследование Джумгальской долины Кыргызстана.

Материалом исследования служили коллекции грибов, собранные авторами в бассейне р. Джумгал, а также сборы, хранящиеся в лаборатории микологии и фитопатологии Института биологии НАН Кыргызской Республики. При идентификации грибов были использованы различные литературные источники [4–11]. Названия таксонов грибов приведены в соответствии с базой данных Интернет-ресурсов SABI Bioscience Database – <http://www.mycobank.org> (по состоянию на 01.03.2019), www.indexfungorum.org (по состоянию 01.03.2019) и согласно 10-му изданию словаря грибов Айнсуорта и Бисби (Р. М. Kirk, Р. F. Cannon, 2008) [12]. Названия растений приведены в соответствии с Кадастром флоры Кыргызстана [13]. Собранный материал хранится в гербарном фонде лаборатории микологии и фитопатологии Института биологии НАН Кыргызской Республики.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных нами исследований было идентифицировано 223 вида грибов и грибоподобных организмов из 77 родов, 34 семейств, относящихся к 3 отделам. Класс Oomycetes (отдел Oomycota) грибоподобных организмов отмечен 4 видами из 2 семейств порядка Peronosporales. Сумчатые грибы (отдел Ascomycota) представлены 150 видами из 65 родов, 4 классов: Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Leotiomycetes, Sordariomycetes. Базидиальные грибы (отдел Basidiomycota) представлены 68 видами из 76 родов, 31 семейства, 4 классов: Agaricomycetes, Exsobasidiomycetes, Pucciniomycetes, Ustilagomycetes. В бассейне р. Джумгал основная группа грибов относится к паразитам на живых растениях, значительно меньше сапротрофов – 41 из 27 родов, 19 семейств, 7 порядков.

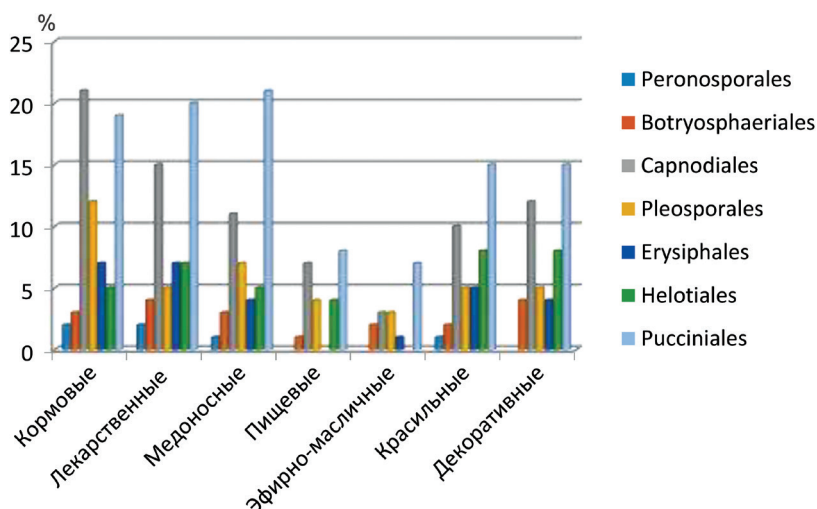
Поскольку изучаемый район является животноводческим, особое внимание было уделено развивающимся на кормовых дикорастущих и культурных травах микромицетам. Распределение микромицетов по хозяйственно значимым группам растений приведено в таблице и на рисунке.

Распределение микромицетов по хозяйственно значимым группам растений

Distribution of micromycetes among economically significant plant groups

Порядок	Грибы	Кормовые	Лекарственные	Медоносные	Пищевые	Эфирно-масличные	Красильные	Декоративные	Сорные
Peronosporales	4	2	2	1			1		
Botryosphaerales	10	3	4	3	1	2	2	4	
Capnodiales	58	21	15	11	7	3	10	12	3
Dothideales	1	1							
Pleosporales	32	12	5	7	4	3	5	5	1
Eurotiales	1	1	1						
Erysiphales	22	7	7	4		1	5	4	
Helotiales	20	5	7	5	4		8	8	
Diaporthales	1	1							
Phyllachorales	1	1							
Sordariales	4	1		2				1	
Agaricales	2	1							
Pucciniales	62	19	20	21	8	7	15	15	3
Ustilaginales	4	3			1				
Грибы	223	91	86	55	28	17	42	70	7
Роды растений	112	33	40	29	15	5	9	36	6

Как следует из таблицы и рисунка, на представителях 33 родов кормовых растений выявлен 91 вид грибов, что вполне объяснимо, так как этот район издавна является животноводческим. Среди отмеченных грибов на растениях рода *Artemisia* зарегистрировано 11 видов: *Golovinomyces artemisiae*, *Melanomma artemisiae-maritimaе*, *Puccinia dracunculina*, *P. absinthii*, *P. artemisiicola*, *P. cinae*, *P. chrysanthemi*, *Ramularia ferruginea*, *Ragnhildiana ferruginea*, *Phyllosticta ferruginea*,



Спектр патогенных микромицетов по хозяйственно значимым группам растений
Spectrum of pathogenic micromycetes among economically significant groups of plants

Phoma artemisiae, *Selenophoma artemisiae*; 6 видов – на Astragalus: *Cucurbitaria astragali*, *Uromyces onthyllidi*, *U. punctatus*, *Pseudocercospora astragali*, *Septoria astragali*, *Typhula variabilis*; 5 видов – на Polygonum: *Erysiphe polygoni*, *Uromyces polygoni-avicularis*, *Ramularia rufomaculans*, *Marssonina polygoni* и *Trifolium*: *Erysiphe trifolii*, *Uromyces nerviphilus*, *U. trifolii*, *Polythrincium trifoli*, *Pseudopeziza trifolii*; 4 вида – на Carex: *Phaeosphaeria caricinella*, *Puccinia dioicae*, *Ramularia sp.*, *Vermicularia caricis*. На следующих родах растений зарегистрированы по три вида микромицетов: *Allium* – *Cladosporium allacinum*, *Cladosporium chamaeropsis*, *Septoria alliorum*; *Bromus* – *Puccinia alternans*, *P. recondite*, *Fusoma telimenellae*; *Geranium* – *Peronospora conglomerate*, *Uredo geranii*, *Puccinia leveillei*; *Hedysarum* – *Uromyces hedysari-obscuri*, *Ramularia hedysari*, *Phyllosticta hedysari*; *Phlomis* – *Neoerysiphe galeopsidis*, *Puccinia phlomidis*, *Septoria phlomidis*. По два вида грибов отмечены на *Achnatherum* – *Tranzscheliella minima*; *Aegopodium* – *Puccinia aegopodii*, *Septoria aegopodii*, *Anemone protracta* – *Paraconiothyrium fuckelii*, *Puccinia resecta*; *Atriplex* – *Ascochyta chenopodiicola*, *Diplodia herbarum*; *Festuca* – *Sphaerellopsis filum*, *Zymoseptoria tritici*; *Medicago* – *Ramularia medicaginis*, *Pseudopeziza medicaginis*, *Mentha* – *Puccinia menthae*, *Golovinomyces biocellatus*; *Plantago* – *Golovinomyces sordidus*, *Cladosporium herbarum*; *Poa* – *Blumeria graminis*, *Telimenella gangraena*; *Chenopodium* – *Peronospora farinosa*, *Aspergillus flavus*; *Taraxacum* – *Puccinia taraxaci*, *Ramularia taraxaci*. По одному виду грибов обнаружено на *Alopecurus* – *Mastigosporium album*, *Elymus* – *Phaeoseptoria elymi*, *Convolvulus* – *Septoria convolvuli*, *Hordeum* – *Zymoseptoria passerinii*, *Kochia* – *Neoramularia kochiae*, *Lathyrus* – *Uromyces pisi-sativi*, *Melilotus* – *Stagonospora meliloti*; *Matricaria sp.* – *Heteropatella lacera*, *Onobrychis* – *Uromyces onobrychidis*, *Ovularia Bornmulleriana*, *Oxytropis* – *Ascochyta oxytropidis*, *Phragmites* – *Puccinia phragmitis*, *Peganum harmala* – *Leveillula taurica*, *Rumex* – *Ascochyta rumicicola*, *Trisetum* – *Ustilago striiformis*, *Triticum* – *Ustilago tritici*, *Tragopogon* – *Puccinia tragopogonis*, *Senecio* – *Paraleptosphaeria macrospora*, *Setaria* – *Phoma crastophila*.

Благодаря разнообразию природных условий и богатству растительного покрова, высокой солнечной инсоляции многие растения имеют лекарственное значение. Поэтому группа лекарственных растений многочисленна по количеству видов микромицетов – 86 видов из 40 родов. В этой группе по 5 видов микромицетов отмечено у следующих родов: *Polygonum* – *Erysiphe polygoni*, *Uromyces polygoni-avicularis*, *Puccinia polygoni*, *Ramularia rufomaculans*, *Marssonina polygoni*; *Berberis* – *Leptostroma berberidis*, *Erysiphe berberidis*, *Puccinia graminis*, *Ramularia berberidis*, *Sphaerulina berberidis*; *Trifolium* – *Erysiphe trifolii*, *Uromyces nerviphilus*, *U. trifolii*, *Polythrincium trifoli*, *Pseudopeziza trifolii*. С 4 видами грибов выявлены следующие роды растений: *Alchimilla* – *Peronospora alchimilla*, *Podosphaera aphanis*, *Ramularia aplospora*, *Trachyspora alchimillae*; *Thalictrum* – *Aecidium thalictri-flavi*, *Pseudocercospora thalictri*, *Passalora thalictrina*, *Macrosporium clematidis*. По три вида имеют следующие роды: *Gentiana* – *Mycosphaerella galatea*, *Puccinia gentianae*,

Phyllosticta gentianaecola; *Rosa* – *Cylindrosporium rosae*, *Phragmidium devastatrix*, *P. potentillae*, *P. tuberculatum*, *Podosphaera fuliginea*, *Fusicladium hippophaes*; *Salix* – *Melampsora salicina*, *M. amygdalinae*, *Marssonina santonensis*. Два віда грыбов выяўлены у наступных родах раслін: *Arctium* – *Golovinomyces depressus*, *Puccinia calcitrapae*; *Leonurus* – *Puccinia stipina*, *Ramularia lamii*; *Euphorbia* – *Aecidium cyparissiae*, *Melampsora euhorbiae*; *Eremurus* – *Puccinia eremuri*, *Phyllosticta eremuri*; *Taraxacum* – *Puccinia taraxaci*, *Ramularia taraxaci*; *Ziziphora* – *Pleospora tomentosa*, *Puccinia ziziphorae*. На астальных родах раслін выяўлена па адному віду грыбов: *Echinops* – *Puccinia echinopsis*, *Ribes* – *Gloeosporidiella variabilis*, *Ranunculus* – *Cladosporium aecidiicola*, *Convolvulus* – *Septoria convolvuli*, *Matricaria* – *Heteropatella lacera*, *Ephedra* – *Coniothyrium ephedricolum*, *Crataegus* – *Entomosporium thumenii*, *Glycyrrhizae* – *Uromyces glycyrrhizae*, *Hyoscyamus* – *Golovinomyces hyosyami*, *Hippophae* – *Fusicladium hippophaes*, *Salvia* – *Septoria salvia-pratensis*, *Sorbus* – *Gymnosporangium clavariiforme*, *Sinapis* – *Alternaria brassicae*, *Scabiosa* – *Mycosphaerella columbariae*, *Tussilago* – *Ramularia brunnea*, *Thymus* – *Microdiplodia thymelaeae*, *Peganum* – *Leveillula taurica*.

К группе медоносных раслін адносіцца 55 відаў з 29 родаў. С 5 відамі грыбов обнаружены наступных тры рода: *Rosa* – *Cylindrosporium rosae*, *Phragmidium devastatrix*, *P. potentillae*, *P. tuberculatum*, *Podosphaera fuliginea*; *Galium* – *Mazzantia galii*, *Leptothurium mossolowii*, *Neoerysiphe galii*, *Puccinia rubefaciens*, *Septoria cruciatae* і *Trifolium* – *Erysiphe trifolii*, *Uromyces nerviphilus*, *U. trifolii*, *Polythrincium trifoli*, *Pseudopeziza trifolii*. На наступных родах раслін адзначены па 4 віда грыбов: *Cotoneaster* – *Diplocarpon mespili*, *Phyllactinia guttata*, *Gymnosporangium clavariiforme*, *G. fusisporum* і *Salix* – *Leptoxylum fumago*, *Rhytisma salicinum*, *Melampsora amygdalinae*, *Septoria didyma*. На відах рода *Hedysarum* знайдзена тры віда: *Uromyces hedysari-obscuri*, *Ramularia hedysari*, *Phyllosticta hedysari*. По два віда грыбов адзначены у наступных родах раслін: *Epilobium* – *Puccinia epilobii-tetragoni*, *Septoria epilobii*; *Barbarea* – *Albugo candida*, *Ramularia barbareae*; *Erigeron* – *Ascochyta asteris*, *Cercospora virgaureae*; *Eremurus* – *Puccinia eremuri*, *Phyllosticta eremuri*; *Mentha* – *Puccinia menthae*, *Golovinomyces biocellatus*; *Taraxacum* – *Puccinia taraxaci*, *Ramularia taraxaci*; *Ziziphora* – *Pleospora tomentosa*, *Puccinia ziziphorae*. Остальныя роды раслін маюць па адному віду грыбов: *Betula* – *Melampsorium betulinum*, *Echinops* – *Puccinia echinopsis*, *Caragana* – *Cucurbitaria astragali*, *Glycyrrhizae* – *Uromyces glycyrrhizae*, *Galatella* – *Ascochyta galatellae*, *Hippophae* – *Fusicladium hippophaes*, *Lepidium* – *Septoria lepidiicola*, *Lathyrus* – *Uromyces pisi-sativi*, *Melilotus* – *Stagonospora meliloti*, *Malus* sp. – *Venturia inaequalis*, *Onobrychis* – *Uromyces onobrychidis*, *Scabiosa* – *Mycosphaerella columbariae*, *Spiraea* – *Cylindrosporium basiplanum*, *Salvia* – *Septoria salvia-pratensis*, *Tragopogon* – *Puccinia tragopogonis*, *Thymus* – *Microdiplodia thymelaeae*.

Група ежычных раслін прадставлена 28 відамі з 15 родаў. По 5 відаў грыбов выяўлена для двух родаў: *Rosa* – *Cylindrosporium rosae*, *Phragmidium devastatrix*, *P. potentillae*, *P. tuberculatum*, *Podosphaera fuliginea*, *Fusicladium hippophaes* і *Berberis* – *Leptostroma berberidis*, *Erysiphe berberidis*, *Puccinia graminis*, *Ramularia berberidis*, *Sphaerulina berberidis*. С двума відамі мікроміцетав прадставлены тры рода: *Epilobium* – *Puccinia epilobii-tetragoni*, *Septoria epilobii*; *Mentha* – *Erysiphe biocellata*, *Puccinia menthae* і *Allium* – *Cladosporium allacinum*, *C. chamaeropsis*, *Septoria alliorum*. На наступных родах выяўлена па адному віду грыбов: *Echinops* – *Puccinia echinopsis*, *Crataegus* – *Entomosporium thumenii*, *Hippophae* – *Phyllactinia hippophaes*, *Malus* – *Venturia inaequalis*, *Ribes* – *Gloeosporidiella variabilis*, *Rumex* – *Ascochyta rumicicola*, *Sinapis* – *Alternaria brassicae*, *Triticum* – *Ustilago tritici*, *Taraxacum* – *Puccinia taraxaci*, *Ramularia taraxaci*, *Urtica* – *Cyathocula cyathoidea*.

Групу эфірна-масляных раслін прадставяюць 17 відаў з 5 родаў: для *Artemisia*, *Mentha* і *Salvia* выяўлена 11, 2 і 1 від мікроміцетав адпаведна, адзначеных раней. Два віда грыбов обнаружено для *Ziziphora* – *Pleospora tomentosa*, *Puccinia ziziphorae* і адзін для *Thymus* – *Diplodia thyme*.

Для 9 родаў з групы красільных раслін выяўлена 42 відаў грыбов. На раслінках з рода *Artemisia*, *Rosa*, *Polygonum* і *Berberis*, як адзначалася вышэй, знайдзена 11, 5, 5 і 6 відаў мікроміцетав адпаведна. Из рода *Lonicera* обнаружено 7: *Cladosporium herbarum*, *Erysiphe lonicerae*, *Marssonina lonicerae*, *Melasmia lonicerae*, *Puccinia festucae*, *P. longirostris*, *Rhytisma lonicerae*. С 4 відамі грыбов выяўлены наступныя роды раслін: *Alchimilla* – *Ramularia aplospora*,

Peronospora alchemillae, *Podosphaera aphanis*, *Trachyspora alchimillae* и *Salix* – *Leptoxyphium fumago*, *Rhytisma salicinum*, *Melampsora amygdalinae*, *Septoria didyma*; Hippophae – с 3: *Phyllactinia hippophaes*, *Fusicladium hippophaes*, *Ramularia cynoglossi*, Sorbus – с 2: *Entomosporium mespili*, *Gymnosporangium turkestanicum*. На представителях остальных родов растений обнаружено по одному виду грибов: *Cynoglossum* – *Golovinomyces cynoglossi*, *Betula* – *Melampsorium betulinum*, *Rumex* – *Ascohyta rumicola*, *Urtica* – *Cyathicula cyathoidea*.

В группе декоративных растений, представленной 36 родами, зарегистрировано 70 видов микромицетов. На видах родов *Lonicera* и *Salix* отмечено 7 и 4 вида микромицета, указанных ранее. Для рода *Gotoneaster* – 4 вида: *Phyllactinia suffulta*, *Gymnosporangium clavariaeforme*, *G. fusisporum*, *Diplocarpon mespili*. С тремя видами грибов обнаружены следующие роды растений: *Allium* – *Cladosporium allicinum*, *C. chamaeropsis*, *Septoria alliorum*; *Gentiana* – *Mycosphaerella galatea*, *Leptothyrium gentianicola*, *Puccinia gentianae*; *Phlomidis* – *Neoerysiphe galeopsidis*, *Puccinia phlomidis*, *Septoria phlomidis*. По два вида грибов отмечены у следующих родов растений: *Eremurus* – *Puccinia eremuri*, *Phyllosticta eremuri*; *Picea* – *Chrysomyxa deformans*, *Coniothyrium conorum*; *Polygala* – *Macrophoma megasperma*, *Ramularia polygalae*; *Clematis* – *Puccinia recondite*, *Phoma vitalba*; *Sorbus* – *Entomosporium mespili*, *Gymnosporangium turkestanicum*; *Setaria* – *Phoma crastophila*, *Phyllosticta crastophila*. По одному виду грибов обнаружены у *Aquilegia* – *Erysiphe aquilegiae*, *Betula* – *Melampsorium betulinum*, *Dianthus* – *Rhabdospora sceptri*, *Crataegus* – *Entomosporium thumenii*, *Caragana* – *Cucurbitaria astragali*, *Campanula* – *Phyllosticta campanulina*, *Galatella* – *Ascohyta galatellae*, *Myricaria* – *Puccinia thuemeniana*, *Myosotis* – *Ramularia cerinthes*, *Rhodiola* – *Puccinia umbilici*, *Sorbus* – *Gymnosporangium clavariiforme*, *Spiraea* – *Cylindrosporium basiplanum*, *Trollius* – *Septoria dschungarica*.

В результате неправильного использования пастбищ возросла засоренность пастбищного травостоя непоедаемыми, вредными и ядовитыми растениями, усилилась закустаренность пастбищ. Сорные растения вытесняют ценные кормовые травы, снижают их урожай и питательную ценность. К сорным растениям нами отнесено 6 родов с 7 видами грибов. Два вида выявлено у *Centaurea* – *Puccinia carthami*, *Ramularia triboutiana*, по одному у *Acroptilon* – *Puccinia acroptili*; *Carduus* – *Puccinia calcitrapae*, *Cardaria* – *Septoria lepidii*; *Caragana* – *Cucurbitaria astragali*, *Lepidium* – *Septoria lepidiicola*.

Заключение. Таким образом, в результате впервые проведенного нами в 2011–2018 гг. микологического исследования Джумгалской долины зарегистрировано 223 вида грибов из 77 родов, 34 семейств из 3 отделов. Установлено, что микромицеты распределяются по 8 хозяйственно значимым группам растений. Самой многочисленной является группа кормовых растений – на представителях 37 родов выявлен 91 вид грибов, на лекарственных – 31 и 86 соответственно, на медоносных – 29 и 55, на пищевых – 28 и 15, на эфирно-масличных растениях – 17 и 5, на красильных – 42 и 9, на декоративных – 38 и 25. К группе сорных отнесены нами представители 6 родов: *Acroptilon*, *Cardaria*, *Carduus*, *Caragana*, *Lepidium*, *Centaurea*, которые засоряют пастбища, на них выявлено 6 родов с 7 видами грибов. В дальнейшем планируется расширить исследования кормовых растений Кыргызстана и приступить к составлению рекомендаций по их восстановлению.

Список использованных источников

1. Чупахин, В. М. Внутренний Тянь-Шань / В. М. Чупахин. – Фрунзе : Киргиз. гос. ун-т, 1959. – 129 с.
2. Атлас Киргизской ССР. ГУГК СССР. – 1987. – Т. 1. – С. 16–157.
3. Ботбаева, М. М. Растительный мир Кыргызстана / М. М. Ботбаева. – Бишкек : Аят, 2007. – 520 с.
4. Азбукина, З. М. Определитель грибов России. Порядок головневые / З. М. Азбукина, И. В. Каратыгин. – СПб. : Наука, 1995. – Вып. 2 : Семейство Тиллетиевые. – 261 с.
5. Флора споровых растений Казахстана / отв. ред. С. Р. Шварцман. – Алма-Ата : Изд-во АН КазССР, 1981. – Т. 12 : Сумчатые грибы / З. М. Бызова, М. П. Васягина. – 244 с.
6. Флора споровых растений Казахстана / отв. ред. С. Р. Шварцман. – Алма-Ата : Изд-во АН КазССР, 1967. – Т. 5, кн. 1 : Флора споровых растений Казахстана. Сферосидные / З. М. Бызова [и др.]. – 339 с.
7. Флора споровых растений Казахстана / отв. ред. С. Р. Шварцман. – Алма-Ата : Изд-во АН КазССР, 1987. – Т. 12, кн. 2 : Сумчатые грибы : Локулоаскомицеты (Loculoascomycetes) / М. П. Васягина, З. М. Бызова, М. А. Тартенова. – 292 с.

8. Гелюта, В. П. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы / В. П. Гелюта. – Киев : Наук. думка, 1989. – 223 с.
9. Купревич, В. Ф. Определитель ржавчинных грибов СССР / В. Ф. Купревич, В. И. Ульянищев. – Минск : Наука и техника, 1975. – 336 с.
10. Купревич, В. Ф. Определитель ржавчинных грибов СССР : в 2 ч. / В. Ф. Купревич, В. И. Ульянищев. – Минск : Наука и техника, 1978. – Ч. 2. – 382 с.
11. Флора споровых растений Казахстана / отв. ред. С. Р. Шварцман. – Алма-Ата : Изд-во АН КазССР, 1973. – Т. 8, кн. 2 : Несовершенные грибы. Монилиальные / С. Р. Шварцман [и др.]. – 527 с.
12. Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi / ed. : P. M. Kirk [et al.]. – 10th ed. – Wallingford, Oxon : CABI, 2008. – 771 p.
13. Лазьков, Г. А. Кадастр флоры Кыргызстана. Сосудистые растения / Г. А. Лазьков, Б. А. Султанова. – Бишкек : Алтын принт, 2014. – 125 с.

References

1. Chupakhin V. M. *The Inner Tien-Shan*. Frunze, Kyrgyz State University, 1959. 129 p. (in Russian).
2. *Atlas of the Kyrgyz SSR. GUGK USSR*, 1987, vol. 1, pp. 16–157 (in Russian).
3. Botbaeva M. M. *Flora of Kyrgyzstan*. Bishkek, Ayat Publ., 2007. 520 p. (in Russian).
4. Azbukina Z. M., Karatygin I. V. *Definitorium fungorum Rossiae. Ordo Ustilaginales. Iss. 2. Tilletian family*. St. Petersburg, Nauka Publ., 1995. 261 p. (in Russian).
5. Byzova Z. M., Vasyagina M. P. *Flora of spore plants of Kazakhstan. Vol. 12. Marsupial mushrooms*. Alma-Ata, Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR, 1981. 244 p. (in Russian).
6. Byzova Z. M., Vasyagina M. P., Deeva N. G., Kalymbetov B. K., Pisareva N. F., Shvartsman S. R. *Flora of spore plants of Kazakhstan. Vol. 5, Book 1. Steropinae*. Alma-ata, Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR, 1967. 339 p. (in Russian).
7. Vasyagina M. P., Byzova Z. M., Tartenova M. A. *Flora of spore plants of Kazakhstan. Vol. 12, Book 2. Marsupials: Loculoascomycetes*. Alma-Ata, Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR, 1987. 292 p. (in Russian).
8. Gelyuta V. P. *Flora of mushrooms of Ukraine. Powdery mildew fungi*. Kyiv, Naukova dumka Publ., 1989. 223 p. (in Russian).
9. Kuprevich V. F., Ul'yanishchev V. I. *Determinant of rust fungi of the USSR*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1975. 336 p. (in Russian).
10. Kuprevich V. F., Ul'yanishchev V. I. *Determinant of rust fungi of the USSR. Pt. 2*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1978. 382 p. (in Russian).
11. Shvartsman S. R., Vasyagina M. P., Byzova Z. M., Filimonova N. M. *Flora of spore plants of Kazakhstan. Vol. 8, Book 2. Fungi imperfecti (Deuteromycetes)*. Alma-Ata, Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR, 1973. 527 p. (in Russian).
12. Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Stalpers J. A. (eds.). *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi. 10th ed.* Wallingford, Oxon, CABI, 2008. 771 p.
13. Laz'kov G. A., Sultanova B. A. *Cadastre of flora of Kyrgyzstan. Vascular plants*. Bishkek, Altyn print Publ., 2014. 125 p. (in Russian).

Информация об авторах

Бексултанова Айзада Маршеевна – мл. науч. сотрудник. Институт биологии НАН Кыргызской Республики (пр. Чуй, 265а, 720071, г. Бишкек, Кыргызская Республика). E-mail: ayzada.beksultanova.82@mail.ru

Мосолова Светлана Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биологии НАН Кыргызской Республики (пр. Чуй, 265а, 720071, г. Бишкек, Кыргызская Республика). E-mail: fungimos@mail.ru

Information about the authors

Ayzada M. Beksultanova – Junior researcher. Institute of Biology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic (265a, Chui Ave., 720071, Bishkek, Kyrgyz Republic). E-mail: ayzada.beksultanova.82@mail.ru

Svetlana N. Mosolova – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Biology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic (265a, Chui Ave., 720071, Bishkek, Kyrgyz Republic). E-mail: fungimos@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 634.74:582.971.1]:631.53:581.143.6:631.811.98

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-88-97>

Поступила в редакцию 17.09.2019

Received 17.09.2019

Е. В. Колбанова*Институт плодоводства, аг. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь***ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ В СОСТАВЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ
НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ У РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ СОРТОВ
ЖИМОЛОСТИ СИНЕЙ (*LONICERA CAERULEA* L. VAR. *KAMTSCHATICA*)**

Аннотация. Пролиферационная активность растений-регенерантов жимолости синей сортов Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова на этапе собственно микроразмножения определяется гормональным составом питательной среды и генотипом. Повышение концентрации 6-БА в питательной среде MS от 0,2 до 1,5–2,0 мг/л приводит к увеличению коэффициента размножения от 1,91 до 3,26–3,57 (без учета сортовых особенностей). Максимальный коэффициент размножения растений-регенерантов сортов Крупноплодная (3,43–3,47) и Голубое веретено (4,11–4,23) получен на среде MS с добавлением 1,5 и 2,0 мг/л 6-БА, Павловская и Волхова (2,80 и 3,90 соответственно) – на среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БА. Увеличить коэффициент размножения можно за счет совместного использования двух регуляторов роста – 6-БА (1,5–2 мг/л) и GA₃ (1,0 мг/л). Использование гибберелловой кислоты приводит к образованию пазушных побегов, интенсификации их роста за счет увеличения длины междоузлий, что позволяет дополнительно делить длинные микропобеги на микрочеренки с двумя-тремя узлами.

Установлено, что при использовании более низких концентраций (0,3–0,6 мг/л) тидиазурона (TDZ) активно стимулируется пролиферация побегов жимолости синей, что позволяет получить высокий коэффициент размножения (до 12), чем при использовании высоких концентраций 6-БА – 1,5 и 2,0 мг/л (коэффициент размножения 2,80–4,23 в зависимости от сорта). Однако поскольку TDZ ингибирует рост микропобегов в длину, а образующийся конгломерат представляет собой скопление мелких побегов, которые не пригодны для этапа ризогенеза, необходима их последующая элонгация на безгормональной питательной среде. Применение TDZ в двух последовательных пассажах при культивировании жимолости синей нежелательно, так как это приводит к еще большему измельчанию побегов.

Ключевые слова: жимолость синяя, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова, микроразмножение, 6-БА, GA₃, TDZ, Беларусь

Для цитирования: Колбанова, Е. В. Влияние фитогормонов в составе питательной среды на пролиферацию у растений-регенерантов сортов жимолости синей (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*) / Е. В. Колбанова // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 88–97. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-88-97>

Elena V. Kolbanova*Institute for Fruit Growing, ag. Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus***INFLUENCE OF FITOHORMONES IN THE NUTRIENT MEDIUM ON THE PROLIFERATION
AT THE MICROPLANTS OF BLUE HONEYSUCKLE CULTIVARS
(*LONICERA CAERULEA* L. VAR. *KAMTSCHATICA*)**

Abstract. The proliferation activity of blue honeysuckle microplants of cultivars ‘Krupnoplodnaya’, ‘Goluboye vereteno’, ‘Pavlovskaya’, ‘Volkhova’ at micropropagation stage is determined by hormonal composition of nutrient medium and genotype. An increase in concentration of 6-BA in MS medium from 0.2 to 1.5–2.0 mg/l leads to an increase in micropropagation rate from 1.91 to 3.26–3.57. The maximum micropropagation rate for cultivars ‘Krupnoplodnaya’ (3.43–3.47) and ‘Goluboye vereteno’ (4.11–4.23) was given at MS medium with addition of 1.5 and 2.0 mg/l 6-BA, for cultivars ‘Pavlovskaya’ and ‘Volkhova’ (2.80 and 3.90 respectively) – at medium with addition of 1.5 mg/l 6-BA. It is possible to increase micropropagation rate due to the joint use of two growth regulators: 6-BA (1.5–2 mg/l) and GA₃ (1.0 mg/l). The use of gibberellic acid leads to formation of axillary branch, intensification of growth by increasing the length of internodes of shoots, which makes it possible to further divide long microshoots into microcuttings with two to three nodes.

It was found that use of TDZ actively stimulates proliferation of blue honeysuckle shoots and allows to obtain a high micropropagation rate (up to 12) at lower concentrations (0.3–0.6 mg/l) than use of 6-BA in high concentration – 1.5 and 2.0 mg/l (micropropagation rate was 2.80–4.23 depending on cultivar). However, TDZ inhibits growth of microshoots in length, forming a conglomerate, which is an accumulation of small shoots that are not suitable for rhyzogenesis stage, and therefore their subsequent

elongation on a hormone-free medium is necessary. The use of TDZ in two consecutive subcultures for cultivating of blue honeysuckle is not desirable, as it leads even more to formation of small shoots.

Keywords: blue honeysuckle, 'Krupnoplodnaya', 'Goluboye vereteno', 'Pavlovskaya', 'Volkhova', micropropagation, 6-BA, GA₃, TDZ, Belarus

For citation: Kolbanova E. V. Influence of fitohormones in the nutrient medium on the proliferation at the microplants of blue honeysuckle cultivars (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*). *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 88–97 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-88-97>

Введение. На этапе собственно микроразмножения растений ключевым моментом является правильно подобранная питательная среда и фитогормональный комплекс, обеспечивающие высокий коэффициент размножения. Для жимолости синей (*Lonicera caerulea* L.) чаще используется среда MS [1–10]. Высокий коэффициент размножения у *Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* был получен на среде 3/4 макро- и микросолей MS (с увеличением концентрации FeNa-EDTA вдвое), дополненной 1,0 мг/л 6-БА у сорта Czelabinka и 2,0 мг/л 6-БА у сорта Duet. Повышение концентрации солей до 100 % или уменьшение до 50 % приводило к уменьшению коэффициента размножения [3]. Интенсивная пролиферация пазушных побегов у *Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* сорта Atut происходила на модифицированной среде MS с добавлением в качестве источника железа – FeNaEDDHA (Sequestrene 138), 50 г/л пшеничного крахмала в качестве гелеобразующего агента и 0,7 мг/л CPPU в качестве цитокинина [4]. О. А. Панькова [7] на этапе пролиферации жимолости синей сорта Нимфа рекомендует использовать среду MS с нарастающей концентрацией 6-БА – от 0,3 до 2,0 мг/л на протяжении 4 пассажей и совместное использование БАП (1,0 мг/л) и кинетина (0,5 мг/л) в 5-м пассаже (коэффициент размножения 27,8 по сравнению с контролем 8,2). Установлено положительное влияние на активизацию ризогенеза смеси цитокининов на пассаже, предшествующем этапу укоренения [7]. М. Т. Упадышев [11] отмечает высокую пролиферативную активность растений-регенерантов сорта Нимфа на среде Андерсона с 1,0 мг/л 6-БА и при чередовании этой среды с разработанной средой во Всероссийском селекционно-технологическом институте садоводства и питомниководства. В. А. Высоцкий, В. А. Валиков [12] максимальный коэффициент размножения для подавляющего числа изученных ими сортов жимолости синей (один из них Нимфа) получили на минеральной основе питательной среды Ли и де Фоссарда, однако показатель средней длины побегов был выше на питательной среде MS. С. С. Макаров и И. Б. Кузнецов [10] установили, что цитокинины Дропп и Цитодеф при микроразмножении жимолости синей сортов Андерма и Морена более эффективны, чем 6-БА.

S. T. Karhu рекомендует использовать для *Lonicera caerulea* var. *caerulea* полную по минеральному составу среду MS с увеличением FeNa-EDTA вдвое и с добавлением 2 мг/л 6-БА. Установлено, что использование 6-БА на стадии собственно микроразмножения более эффективно, чем кинетин. Повышение концентрации 6-БА от 1,1 до 17,8 μ M приводит к увеличению количества пазушных побегов от 3 до 13. Для *Lonicera caerulea* var. *edulis* пролиферация пазушных побегов увеличивается при разбавлении минеральной основы среды MS до 75 % [9].

По данным O. Ninjmaa с соавт. [13], для *Lonicera caerulea* var. *edulis* трех сортов (9-15, Sendrella, Zolushca) лучшей для микроразмножения являлась среда Gamborg's B5 с добавлением тидиазурона (TDZ) в концентрации 0,2 мг/л: коэффициент размножения 4,4–8,5 побега на эксплант в зависимости от генотипа.

L. D. Osburn с соавт. отмечают влияние регуляторов роста и питательной среды на коэффициент размножения жимолости японской (*Lonicera japonica* Thunb.) и жимолости амурской (*Lonicera taackii* (Rupr.) Maxim). Самый высокий коэффициент размножения у жимолости японской (14) был на питательной среде Драйвера-Куньюки (DKW) с 5 μ M 6-БА, а у жимолости амурской (38) – на питательной среде MS, дополненной 2,5 μ M 6-БА с или без 1,25 μ M индолил-3-масляной кислоты (ИМК) [14].

Таким образом, успешность этапа собственно микроразмножения жимолости синей во многом определяется правильно подобранным гормональным составом питательной среды.

Цель данной работы – изучить влияние фитогормонов в составе питательной среды на процесс пролиферации сортов жимолости синей.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на базе отдела биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2015–2016 гг. Объекты исследований: сорта жимолости Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова.

На этапе микроразмножения жимолости (4–6 пассажей) использовали модифицированные питательные среды:

1) макро- и микросоли по MS, FeNa-EDTA по MS увеличен в 2 раза, витамины B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, витамин С – 1 мг/л, глицин – 2 мг/л, мезоинозит – 100 мг/л, с добавлением 6-бензиладенина (6-БА) в концентрациях 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 и 2,0 мг/л, сахара – 30 г/л, агар – 5,8 г/л (рН 5,6–5,7);

2) макро- и микросоли по MS, FeNa-EDTA по MS увеличен в 2 раза, витамины B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, витамин С – 1 мг/л, глицин – 2 мг/л, мезоинозит – 100 мг/л, с добавлением 6-БА и гибберелловой кислоты (GA₃) в концентрациях 1,5/0; 1,5/0,5; 1,5/1,0; 2,0/0; 2,0/0,5; 2,0/1,0 мг/л соответственно, сахара – 30 г/л, агар – 5,8 г/л (рН 5,6–5,7);

3) макро- и микросоли по MS, FeNa-EDTA по MS увеличен в 2 раза, витамины B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, витамин С – 1 мг/л, глицин – 2 мг/л, мезоинозит – 100 мг/л, с добавлением TDZ в концентрациях 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 мг/л, сахара – 30 г/л, агар – 5,8 г/л (рН 5,6–5,7).

Автоклавирование среды проводили в течение 15 мин после добавления регуляторов роста при 0,9–1 атм. Условия культивирования растений-регенерантов *in vitro*: освещение (лампы NARVA LT, 36 W) – 2,5–3 тыс. лк, температура – 20–22 °С и фотопериод – 16/8 ч. Растения-регенеранты культивировали в пробирках размером 220×22 мм с объемом питательной среды 10 мл. Длительность субкультивирования – 6 недель.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0, используя ANOVA, двухфакторный анализ, критерий Дункана при $p < 0,05$ для сравнения средних величин ($n = 3$).

Результаты и их обсуждение. Влияние концентрации 6-бензиладенина на микроразмножение. Установлено влияние сортовых особенностей, концентрации 6-БА и совместное влияние этих двух факторов ($p < 0,001$) на коэффициент размножения жимолости синей. Повышение концентрации 6-бензиладенина в питательной среде от 0,2 до 1,5–2,0 мг/л приводило к увеличению коэффициента размножения у растений-регенерантов сорта Крупноплодная в 1,4 раза, у сорта Голубое веретено – в 1,9–2,0 раза, причем значимых различий между высокими концентрациями (1,5 и 2,0 мг/л) у обоих сортов не наблюдалось. У сортов Павловская и Волхова наибольший коэффициент размножения получен на питательной среде с добавлением 6-БА в концентрации 1,5 мг/л: 2,80 и 3,90 соответственно, что превышает данный показатель на питательной среде с добавлением 6-БА в минимальной концентрации (0,2 мг/л) в 2,1–2,2 раза. Однако при использовании концентрации 6-БА в диапазоне от 0,6 до 2,0 мг/л у сорта Павловская и 0,6–1,5 мг/л у сорта Волхова значимых различий не выявлено (табл. 1).

Таблица 1. Влияние концентрации 6-БА на коэффициент размножения жимолости синей

Table 1. Effect of 6-BA concentration on micropropagation rate of blue honeysuckle

Сорт (фактор А)	Концентрация 6-БА, мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Крупноплодная	0,2	2,42 ± 0,21 ghi
	0,4	2,47 ± 0,27 ghi
	0,6	2,73 ± 0,18 efg
	0,8	2,87 ± 0,12 efg
	1,0	3,07 ± 0,18 de
	1,5	3,47 ± 0,05 cd
Голубое веретено	0,2	2,13 ± 0,21 hij
	0,4	2,05 ± 0,11 ij
	0,6	2,41 ± 0,11 ghi
	0,8	2,81 ± 0,15 efg
	1,0	3,40 ± 0,13 cd
	1,5	4,11 ± 0,11 a
	2,0	4,23 ± 0,15 a

Окончание табл. 1

Сорт (фактор А)	Концентрация 6-БА, мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Павловская	0,2	1,25 ± 0,10 l
	0,4	1,59 ± 0,17 kl
	0,6	2,41 ± 0,30 ghi
	0,8	2,55 ± 0,05 fgh
	1,0	2,61 ± 0,07 fg
	1,5	2,80 ± 0,14 efg
	2,0	2,47 ± 0,01 fghi
Волхова	0,2	1,85 ± 0,05 jk
	0,4	2,59 ± 0,09 fg
	0,6	3,80 ± 0,03 abc
	0,8	3,46 ± 0,05 cd
	1,0	3,61 ± 0,02 bc
	1,5	3,90 ± 0,04 ab
	2,0	2,93 ± 0,18 ef
<i>Среднее по фактору А (сорт)</i>		
Крупноплодная		2,92 ± 0,10 G
Голубое веретено		3,02 ± 0,19 FG
Павловская		2,24 ± 0,13 H
Волхова		3,16 ± 0,16 F
<i>Среднее по фактору В (концентрация 6-БА)</i>		
0,2 мг/л 6-БА		1,91 ± 0,15 E
0,4 мг/л 6-БА		2,17 ± 0,14 D
0,6 мг/л 6-БА		2,84 ± 0,19 C
0,8 мг/л 6-БА		2,92 ± 0,11 C
1,0 мг/л 6-БА		3,17 ± 0,12 B
1,5 мг/л 6-БА		3,57 ± 0,16 A
2,0 мг/л 6-БА		3,26 ± 0,20 B

Примечание. Данные с одинаковыми буквами статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана). Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка. То же в табл. 2, 3.

Так как у всех сортов жимолости синей на средах MS с добавлением 6-БА формировался конгломерат побегов с неудлиненными междоузлиями, коэффициент размножения рассчитывали в соответствии с количеством микропобегов у одного растения-регенеранта за один пассаж (рис. 1).

Зависимость коэффициента размножения жимолости синей от концентрации 6-БА и генотипа отмечена и другими исследователями [1, 2, 15]. Высокий коэффициент размножения (10,5) у генотипа 20/1 наблюдался на среде MS с добавлением 2,0 мг/л 6-БА, в то время как у сорта Altaj на такой среде максимальное число побегов составило 4,5, а с увеличением концентрации 6-БА до 4 мг/л коэффициент размножения у генотипа 20/1 уменьшался до 7,3, у сорта Altaj – до 1,6 [1]. Максимальный коэффициент размножения у сорта Brazowa (3,67) был получен на среде MS, дополненной 6-БА в концентрации 1,0 мг/л, у Clone 44 и 46 (коэффициент размножения 5,5 и 3,68 соответственно) – при использовании 6-БА в концентрации 2,0 мг/л [2]. Самый высокий коэффициент размножения при концентрации 6-БА 1,0 мг/л имели экспланты сорта Синяя птица, а самый низкий – сорта Морена [15]. По данным S. T. Karhu [9], повышение концентрации 6-БА от 0,25 до 4,0 мг/л в питательной среде MS при культивировании *Lonicera caerulea* var. *caerulea* приводит к увеличению коэффициента размножения от 3 до 13. У жимолости амурской (*Lonicera taackii* (Rupr.) Maxim) при добавлении в питательную среду MS 6-БА уже в концентрации 0,5 мг/л получен коэффициент размножения 38 [14].

Совместное влияние 6-бензиладенина и гибберелловой кислоты на микроразмножение. Поскольку высокий коэффициент размножения у всех сортов был получен при использовании 6-БА



Рис. 1. Конгломерат микропобегов на среде MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БА (а) и микропобеги после черенкования конгломерата (б) у сорта Крупноплодная

Fig. 1. Conglomerate of microshoots on MS medium with addition of 1.5 mg/l 6-BA (a) and microshoots after cutting of conglomerate (b) In cultivar 'Krupnoplodnaya'

в концентрациях 1,5 и 2,0 мг/л, именно эти концентрации были применены в ходе дальнейших исследований, чтобы повысить коэффициент размножения сортов жимолости синей путем совместного использования 6-БА и GA_3 на этапе микроразмножения. Установлен достоверно высокий уровень значимости ($p < 0,001$) при совместном применении 6-БА и GA_3 и сортовых особенностей, а также этих двух факторов вместе ($p < 0,01$) на коэффициент размножения.

Для сорта Крупноплодная эффективными были следующие сочетания 6-БА и GA_3 : 1,5 мг/л 6-БА/0,5 мг/л GA_3 ; 1,5 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 и 2,0 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 , что позволило увеличить коэффициент размножения в 1,6–1,8 раза по сравнению с использованием только 6-БА в концентрациях 1,5 и 2,0 мг/л. Для сорта Голубое веретено эффективным было сочетание 6-БА в концентрации 2,0 мг/л и GA_3 в концентрации 1,0 мг/л (коэффициент размножения составил 6,39). Для сорта Павловская эффективным было сочетание 6-БА в концентрации 1,5 мг/л и GA_3 в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л, что позволило увеличить коэффициент размножения в 1,7 раза по сравнению с использованием только 6-БА. У сорта Волхова достоверных различий по вариантам опыта без добавления и с добавлением GA_3 не наблюдалось (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Влияние концентрации 6-БА и GA_3 на коэффициент размножения жимолости синей

Table 2. Effect of concentration of 6-BA and GA_3 on micropropagation rate of blue honeysuckle

Сорт (фактор А)	Концентрации 6-БА и GA_3 , мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Крупноплодная	1,5 6-БА	3,45 ± 0,33 fghij
	1,5 6-БА/0,5 GA_3	5,63 ± 0,23 abcd
	1,5 6-БА/1,0 GA_3	6,07 ± 0,18 ab
	2,0 6-БА	3,47 ± 0,46 fghij
	2,0 6-БА/0,5 GA_3	3,75 ± 0,09 efg hij
	2,0 6-БА/1,0 GA_3	5,86 ± 0,35 abc
Голубое веретено	1,5 6-БА	4,07 ± 0,52 efg
	1,5 6-БА/0,5 GA_3	4,43 ± 0,52 def
	1,5 6-БА/1,0 GA_3	5,0 ± 0,58 bcde
	2,0 6-БА	4,21 ± 0,23 efg
	2,0 6-БА/0,5 GA_3	4,77 ± 0,72 cdef
	2,0 6-БА/1,0 GA_3	6,39 ± 0,33 a
Павловская	1,5 6-БА	2,73 ± 0,43 hij
	1,5 6-БА/0,5 GA_3	4,44 ± 0,76 def
	1,5 6-БА/1,0 GA_3	4,64 ± 0,43 cdef
	2,0 6-БА	2,47 ± 0,20 j
	2,0 6-БА/0,5 GA_3	2,69 ± 0,32 ij
	2,0 6-БА/1,0 GA_3	2,65 ± 0,30 ij

Сорт (фактор А)	Концентрации 6-БА и GA ₃ , мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Волхова	1,5 6-БА	3,88 ± 0,20 efghi
	1,5 6-БА/0,5 GA ₃	4,07 ± 0,26 efgh
	1,5 6-БА/1,0 GA ₃	4,33 ± 0,31 ef
	2,0 6-БА	2,88 ± 0,31 ghij
	2,0 6-БА/0,5 GA ₃	3,85 ± 0,38 efghi
	2,0 6-БА/1,0 GA ₃	4,04 ± 0,29 efgh
<i>Среднее по фактору А (сорт)</i>		
Крупноплодная	4,70 ± 0,30 С	
Голубое веретено	4,81 ± 0,26 С	
Павловская	3,27 ± 0,27 Е	
Волхова	3,84 ± 0,15 D	
<i>Среднее по фактору В (концентрации 6-БА и GA₃)</i>		
1,5 6-БА	3,53 ± 0,23 В	
1,5 6-БА/0,5 GA ₃	4,64 ± 0,28 А	
1,5 6-БА/1,0 GA ₃	5,01 ± 0,26 А	
2,0 6-БА	3,26 ± 0,24 В	
2,0 6-БА/0,5 GA ₃	3,76 ± 0,29 В	
2,0 6-БА/1,0 GA ₃	4,74 ± 0,47 А	

Таким образом, добавление GA₃ ведет к появлению пазушных побегов, интенсификации роста за счет увеличения длины междоузлий у растений-регенерантов жимолости, что позволяет делить длинные микропобеги на микрочеренки с 2–3 узлами, за счет чего и увеличивается коэффициент размножения (рис. 2).

В. Н. Сорокопудов с соавт. [15] для увеличения коэффициента размножения жимолости синей также проводили микрочеренкование растений-регенерантов, высаживая на питательную среду сегменты побега с 1–2 междоузлиями. Н. А. Семенова [5] для увеличения коэффициента размножения сортов жимолости съедобной (Гжелка, Люлия, Московская 23) использовала этио-

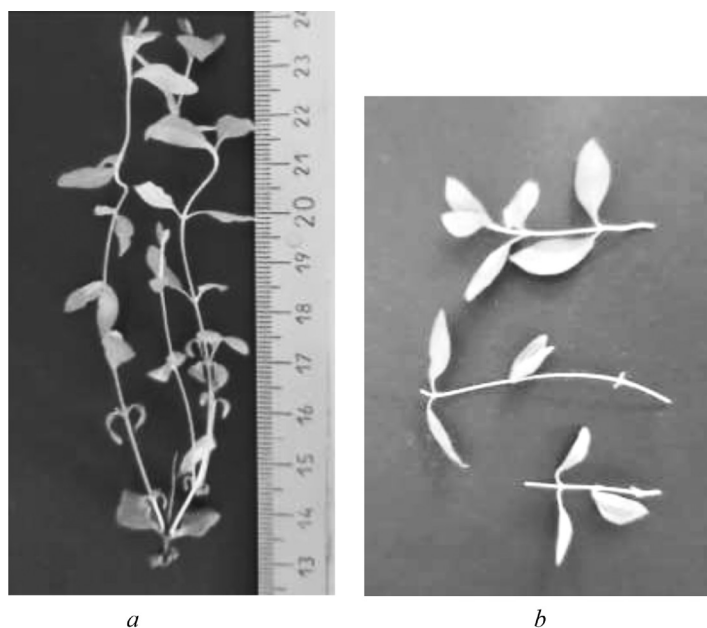


Рис. 2. Конгломерат микропобегов на среде MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БА и 1,0 мг/л GA₃ (а); 3-узловые и верхушечный микрочеренки после черенкования конгломерата (b) у сорта Крупноплодная

Fig. 2. Conglomerate of microshoots on MS medium with addition of 1.5 mg/l 6-BA and 1.0 mg/l GA₃(a); b – three-nodal and apical microcuttings after cutting of conglomerate (b) in cultivar ‘Krupnoplodnaya’

ляцию посаженных 2–3 узловых микрочеренков, что увеличивало длину побегов и, следовательно, коэффициент размножения.

Влияние концентрации тидиазурона на микроразмножение. Установлен достоверно высокий уровень значимости ($p < 0,001$) влияния TDZ, сортовых особенностей и этих двух факторов вместе на коэффициент размножения. Использование TDZ активно стимулировало пролиферацию побегов у сортов жимолости синей. Добавление TDZ в питательную среду уже в низкой концентрации (0,1 мг/л) дало высокий коэффициент размножения – от 5,77 (Павловская) до 6,07–6,23 (Волхова, Крупноплодная). Повышение концентрации TDZ в питательной среде от 0,1 до 0,6 мг/л увеличивало коэффициент размножения в 1,9 раза у сорта Волхова (11,37), в 2 раза у сорта Крупноплодная (12,33), в 2,2 раза у сорта Павловская (12,80). У сорта Павловская достоверных различий по коэффициенту размножения на средах, содержащих 0,5 и 0,6 мг/л TDZ, не наблюдали, у сорта Волхова достоверных различий не было на средах с 0,3 и 0,6 мг/л TDZ (табл. 3). J. Sedlák, F. Paprštejn [16] максимальный коэффициент размножения (12,8) у *Lonicera kamtschatica* получили на среде MS с добавлением TDZ (1 мг/л), в то время как при использовании 6-БА в концентрации 2 мг/л максимальный коэффициент размножения составил 2,4.

Таким образом, использование тидиазурона на стадии микроразмножения позволяет получить высокий коэффициент размножения (до 12) при более низких концентрациях (0,3–0,6 мг/л), чем использование 6-БА в высоких концентрациях – 1,5 и 2,0 мг/л (коэффициент размножения 2,80–4,23 в зависимости от сорта). Однако наряду с очевидным преимуществом наблюдали и негативный эффект TDZ. Так, он ингибировал рост микропобегов в длину, а образующийся

Таблица 3. Влияние концентрации TDZ на коэффициент размножения жимолости синей

Table 3. Effect of TDZ concentration on blue honeysuckle micropropagation rate

Сорт (фактор А)	Концентрация TDZ, мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Крупноплодная	0,1	6,23 ± 0,32 j
	0,2	7,03 ± 0,09 i
	0,3	7,87 ± 0,22 gh
	0,4	8,20 ± 0,10 g
	0,5	9,40 ± 0,2 e
	0,6	12,33 ± 0,07 b
Павловская	0,1	5,77 ± 0,18 j
	0,2	6,23 ± 0,03 j
	0,3	12,17 ± 0,18 b
	0,4	10,40 ± 0,11 d
	0,5	12,83 ± 0,17 a
	0,6	12,80 ± 0,11 a
Волхова	0,1	6,07 ± 0,13 j
	0,2	7,43 ± 0,09 hi
	0,3	11,23 ± 0,13 c
	0,4	8,77 ± 0,17 f
	0,5	9,70 ± 0,10 e
	0,6	11,37 ± 0,14 c
<i>Среднее по фактору А (сорт)</i>		
Крупноплодная	8,51 ± 0,48 H	
Павловская	10,03 ± 0,72 F	
Волхова	9,09 ± 0,47 G	
<i>Среднее по фактору В (концентрация TDZ)</i>		
0,1 мг/л TDZ	6,02 ± 0,13 E	
0,2 мг/л TDZ	6,90 ± 0,18 D	
0,3 мг/л TDZ	10,42 ± 0,66 B	
0,4 мг/л TDZ	9,12 ± 0,34 C	
0,5 мг/л TDZ	10,64 ± 0,55 B	
0,6 мг/л TDZ	12,17 ± 0,22 A	

Рис. 3. Конгломерат микропобегов жимолости синей сорта Крупноплодная на среде MS с добавлением 0,3 мг/л TDZ

Fig. 3. Conglomerate of blue honeysuckle microshoots (cultivar 'Krupnoplodnaya') on MS medium with addition of 0.3 mg/l TDZ

конгломерат представлял собой скопление мелких побегов, которые не пригодны для этапа ризогенеза (рис. 3). Возникла необходимость в их последующей элонгации на безгормональной питательной среде. Применение TDZ в двух последовательных пассажах при культивировании жимолости синей нежелательно, так как приводит к еще большему измельчанию побегов. По данным J. P. Nieuwkerk [17], использование TDZ при микро-размножении яблони сорта Gala не только стимулировало пролиферацию укороченных побегов, но и приводило к изменению морфологии листовой пластинки у побегов. Последующее культивирование в течение 1–2 пассажей на средах, не содержащих цитокинины, позволило преодолеть эти негативные эффекты и укоренить полученные растения. Кроме того, при культивировании на средах с TDZ возможна витрификация и фациация побегов [18].

Таким образом, учитывая ингибирующее влияние TDZ на рост микропобегов жимолости синей, из диапазона концентраций 0,3–0,6 мг/л, дающих высокий коэффициент размножения, предпочтение следует отдать более низкой концентрации.

Заключение. Пролиферационная активность растений-регенерантов жимолости синей сортов Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова на этапе собственно микро-размножения определяется гормональным составом питательной среды и генотипом.

Повышение концентрации 6-БА в питательной среде MS от 0,2 до 1,5–2,0 мг/л приводит к увеличению коэффициента размножения от 1,91 до 3,26–3,57 (без учета сортовых особенностей). Максимальный коэффициент размножения растений-регенерантов сортов Крупноплодная (3,43–3,47) и Голубое веретено (4,11–4,23) получен на среде MS с добавлением 1,5 и 2,0 мг/л 6-БА, Павловская и Волхова (2,80 и 3,90 соответственно) – на среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БА.

Установлено увеличение коэффициента размножения при совместном применении двух регуляторов роста – 6-БА (1,5–2 мг/л) и GA_3 (1,0 мг/л). Использование GA_3 приводит к образованию пазушных побегов, интенсификации их роста за счет увеличения длины междоузлий, что позволяет дополнительно делить длинные микропобеги на микрочеренки с 2–3 узлами. Для сорта Крупноплодная эффективными были сочетания 1,5 мг/л 6-БА/0,5 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 5,63); 1,5 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 6,07) и 2,0 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 5,86); для сорта Голубое веретено – сочетание 2,0 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 6,39); для сорта Павловская – 1,5 мг/л 6-БА/0,5 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 4,44) и 1,5 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 4,64).

Установлено, что использование TDZ активно стимулирует пролиферацию побегов жимолости синей и позволяет получить высокий коэффициент размножения (до 12) при более низких концентрациях (0,3–0,6 мг/л), чем использование 6-БА в высоких концентрациях – 1,5 и 2,0 мг/л (коэффициент размножения 2,80–4,23 в зависимости от сорта). Однако TDZ ингибирует рост микропобегов в длину, делая их непригодными для этапа ризогенеза, поэтому необходим дополнительный этап элонгации на безгормональной среде. Применение TDZ в двух последовательных пассажах при культивировании жимолости синей нежелательно, так как это приведет к еще большему измельчанию побегов. Из диапазона концентраций TDZ от 0,3 до 0,6 мг/л, дающих высокий коэффициент размножения, целесообразнее использовать более низкую, учитывая наличие негативных эффектов.



СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Sedlák, J. *In vitro* propagation of blue honeysuckle / J. Sedlák, F. Paprštejn // *Horticult. Sci.* – 2007. – Vol. 34, N 4. – P. 129–131. <https://doi.org/10.17221/1871-hortsci>
2. Marcelina, K.-M. Propagation of blue honeysuckles (*Lonicera caerulea* L.) in *in vitro* culture / K.-M. Marcelina, O. Ireneusz // *J. Basic Appl. Sci.* – 2014. – Vol. 10. – P. 164–169. <https://doi.org/10.6000/1927-5129.2014.10.22>
3. Dziedzic, E. Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Pojark.) in *in vitro* culture / E. Dziedzic // *J. Fruit Ornament. Plant Res.* – 2008. – Vol. 16. – P. 93–100.
4. *In vitro* propagation of *Lonicera kamtschatica* / A. Fira [et al.] // *Agricult.-Sci. Practice.* – 2014. – N 1–2. – P. 90–99. <http://dx.doi.org/10.15835/arspa.v89i1-2.10239>
5. Семенова, Н. А. Совершенствование технологии размножения *in vitro*, условий адаптации и доращивания жимолости съедобной : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.08 / Н. А. Семенова ; Рос. гос. аграр. ун-т. – М., 2016. – 26 с.
6. Получение *in vitro* культур жимолости синей сортов 'Лазурная', 'Аврора', 'Камчадалка', 'Ленинградский великан' / О. И. Махонина [и др.] // *Биология клеток растений in vitro и биотехнология : тез. докл. XI Междунар. конф., Минск, 23–27 сентября 2018 г. / НАН Беларуси [и др.] ; редкол. : В. Н. Решетников [и др.]*. – Минск, 2018. – С. 146.
7. Панькова, О. А. Перспективы использования биотехнологических методов в системе производства оздоровленного посадочного материала жимолости синей в Удмуртии / О. А. Панькова // *Аграр. наука Евро-Северо-Востока.* – 2009. – № 1 (12). – С. 43–47.
8. Макаров, С. С. Влияние состава питательной среды на клональное микроразмножение жимолости съедобной / С. С. Макаров, Е. А. Калашникова // *Плодоводство и ягодоводство России.* – 2017. – Т. 49. – С. 217–222.
9. Karhu, S. T. Axillary shoot proliferation of blue honeysuckle / S. T. Karhu // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 1997. – Vol. 48. – P. 195–201. <https://doi.org/10.1023/A:1005842022064>
10. Макаров, С. С. Влияние регуляторов роста на органогенез жимолости при клональном микроразмножении / С. С. Макаров, И. Б. Кузнецова // *Вестн. НГАУ.* – 2018. – № 4 (49). – С. 36–42.
11. Упадышев, М. Т. Повышение эффективности микроразмножения плодовых и ягодных культур путем чередования сред с разным минеральным составом / М. Т. Упадышев // *Садоводство и виноградарство.* – 2012. – № 3. – С. 29–31.
12. Высоцкий, В. А. Клональное микроразмножение жимолости в производственных условиях / В. А. Высоцкий, В. А. Валиков // *Садоводство и виноградарство.* – 2014. – № 6. – С. 18–23.
13. *In vitro* propagation of blue honeysuckle (*Lonicera edulis*) / O. Ninjmaa [et al.] // *Int. J. Res. Studies Sci., Engineering Technol.* – 2015. – Vol. 2, N 10. – P. 57–61.
14. Micropropagation of japanese honeysuckle (*Lonicera japonica*) and amur honeysuckle (*L. maackii*) by shoot tip culture / L. D. Osburn [et al.] // *J. Environmental Horticulture.* – 2009. – Vol. 27, N 4. – P. 195–199.
15. Сорокопудов, В. Н. Сорта съедобной жимолости: биология и основы культивирования / В. Н. Сорокопудов, А. Г. Кукина, М. Т. Упадышев. – М. : ФГБНУ ВСТИСП, 2018. – 160 с.
16. Sedlák, J. Micropropagation of edible honeysuckle / J. Sedlák, F. Paprštejn // *Védecké práce ovocnářské.* – 2013. – Vol. 23. – P. 157–163.
17. Nieuwkerk, J. P. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro* / J. P. Nieuwkerk, R. H. Zimmerman, I. Fordham // *HortSci.* – 1986. – Vol. 21. – P. 516–518.
18. Huettelman, C. A. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture / C. A. Huettelman, J. E. Preece // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 1993. – Vol. 33, N 2. – P. 105–119. <https://doi.org/10.1007/bf01983223>

References

1. Sedlák J., Paprštejn F. *In vitro* propagation of blue honeysuckle. *Horticultural Science*, 2007, vol. 34, no. 4, pp. 129–131. <https://doi.org/10.17221/1871-hortsci>
2. Marcelina K.-M., Ireneusz O. Propagation of blue honeysuckles (*Lonicera caerulea* L.) in *in vitro* culture. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 2014, vol. 10, pp. 164–169. <https://doi.org/10.6000/1927-5129.2014.10.22>
3. Dziedzic E. Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Pojark.) in *in vitro* culture. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 2008, vol. 16, pp. 93–100.
4. Fira A., Clapa D., Cristea V., Catita P. *In vitro* propagation of *Lonicera kamtschatica*. *Agriculture-Science and Practice*, 2014, no. 1–2, pp. 90–99. <http://dx.doi.org/10.15835/arspa.v89i1-2.10239>
5. Semenova N. A. *Improving of in vitro propagation technology, conditions of adaptation and growing of edible honeysuckle*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2016. 26 p. (in Russian).
6. Makhonina O. I., Lastenko I. I., Chernousova I. A., Balkovskaya A. V., Filipenya V. L. Obtaining of *in vitro* culture of blue honeysuckle cultivars 'Lazurnaya', 'Aurora', 'Kamchadalka', 'Leningradskiy velikan'. *Biologiya kletok rastenii in vitro i biotekhnologiya: tezisy dokladov XI Mezhdunarodnoi konferentsii (Minsk, 23–27 sentyabrya 2018 goda)* [The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology: abstracts of the XI International conference (Minsk, September 23–27, 2018)]. Minsk, 2018, p. 146 (in Russian).
7. Pan'kova O. A. Prospects for the use of biotechnological methods in system of production of healthy planting material of blue honeysuckle in Udmurtia. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* [Agricultural science Euro-North-East], 2009, no. 1 (12), pp. 43–47 (in Russian).
8. Makarov S. S., Kalashnikova E. A. The influence of nutrient medium composition on micropropagation of edible honeysuckle. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii* [Pomiculture and small fruits culture in Russia], 2017, vol. 49, pp. 217–222 (in Russian).

9. Karhu S. T. Axillary shoot proliferation of blue honeysuckle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1997, vol. 48, pp. 195–201. <https://doi.org/10.1023/A:1005842022064>
10. Makarov S. S., Kuznetsova I. B. The influence of growth regulators on organogenesis of honeysuckle during micropropagation. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University], 2018, no. 4 (49), pp. 36–42 (in Russian).
11. Upadyshev M. T. Improving of efficiency of micropropagation of fruit and berry crops by alternating media with different mineral composition. *Sadovodstvo i vinogradarstvo* [Horticulture and viticulture], 2012, no. 3, pp. 29–31 (in Russian).
12. Vysotskii V. A., Valikov V. A. Micropropagation of honeysuckle in working conditions. *Sadovodstvo i vinogradarstvo* [Horticulture and viticulture], 2014, no. 6, pp. 18–23 (in Russian).
13. Ninjmaa O., Gereltuya P., Saranchimeg B., Narangoo A. *In vitro* propagation of blue honeysuckle (*Lonicera edulis*). *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, 2015, vol. 2, no. 10, pp. 57–61.
14. Osburn L. D., Yang X., Li Y., Cheng Z.-M. Micropropagation of japanese honeysuckle (*Lonicera japonica*) and amur honeysuckle (*L. maackii*) by shoot tip culture. *Journal of Environmental Horticulture*, 2009, vol. 27, no. 4, pp. 195–199.
15. Sorokopudov V. N., Kuklina A. G., Upadyshev M. T. *Cultivars of edible honeysuckle: biology and the basis of cultivation*. Moscow, Federal State Budget Scientific Institution “All-Russian Institute of Horticulture and Nursery”, 2018. 160 p. (in Russian).
16. Sedlák J., Paprštejn F. Micropropagation of edible honeysuckle. *Vědecké práce ovocnářské*, 2013, vol. 23, pp. 157–163.
17. Nieuwkerk J. P., Zimmerman R. H., Fordham I. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *HortScience*, 1986, vol. 21, pp. 516–518.
18. Huetteman C. A., Preece J. E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1993, vol. 33, no. 2, pp. 105–119. <https://doi.org/10.1007/bf01983223>

Информация об авторе

Колбанова Елена Вячеславовна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт плодородства (ул. Ковалева, 2, 223013, аг. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: kolbanova@tut.by

Information about the author

Elena V. Kolbanova – Ph. D. (Biol.), Assistant professor, Head of the Laboratory. Institute for Fruit Growing (2, Kovalev Str., 223013, ag. Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: kolbanova@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 635.9:632.4+577.29
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-98-105>

Поступила в редакцию 09.09.2019
Received 09.09.2019

Л. А. Головченко¹, Н. Г. Дишук¹, С. В. Пантелеев², О. Ю. Баранов²

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
²Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

НОВЫЙ ИНВАЗИВНЫЙ ВИД *MYCOSPHAERELLA DEARNESSII* В СОСТАВЕ МИКОБИОТЫ ХВОИ СОСНЫ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

Аннотация. В статье приведены результаты проведенного в 2016–2019 гг. мониторинга различных видов сосен в насаждениях ботанических садов, дендропарков, городов, лесных и декоративных питомников, садовых центров республики на пораженность инвазивными видами грибов. Видовую идентификацию возбудителей болезни осуществляли по общепринятым в фитопатологии и микологии методикам, подтверждали молекулярно-генетическим методом. В результате обследования обнаружен и идентифицирован инвазивный вид *Mycosphaerella dearnessii* – возбудитель коричневого пятнистого ожога хвои сосен. Болезнь выявлена на отдельных экземплярах сосны горной, сосны черной и сосны желтой в насаждениях Центрального ботанического сада, ботанического сада Витебского государственного университета, декоративных питомников Гродненской области. Поражение грибом не только старой, но и молодой хвои, не достигшей однолетнего возраста, не столько отрицательно сказывается на декоративных качествах деревьев, сколько угнетает процессы их роста и развития. На основании полученных данных можно утверждать, что гриб *Mycosphaerella dearnessii* является потенциально опасным для сосновых насаждений республики, что свидетельствует о необходимости безотлагательной разработки методов по ограничению его распространения на территории Беларуси.

Ключевые слова: сосна, аборигенные и интродуцированные виды растений, болезни растений, инвазии, *Mycosphaerella dearnessii*, микологические и молекулярно-генетические методы

Для цитирования: Новый инвазивный вид *Mycosphaerella dearnessii* в составе микобиоты хвои сосны на территории Беларуси / Л. А. Головченко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. навук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 98–105. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-98-105>

Liudmila A. Golovchenko¹, Natalia G. Dishuk¹, Stanislav V. Pantelev², Oleg Yu. Baranov²

¹Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
²Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

NEW INVASIVE SPECIE OF *MYCOSPHAERELLA DEARNESSII* IN THE COMPOSITION OF MYCOBIOTA OF PINE NEEDLES IN THE TERRITORY OF BELARUS

Abstract. Different pines species are heavily infected with fungal pathogens all over the world, some of them are alien species for European region. The potential invasion of alien species into forests, forest nurseries, urban greeneries causes great concern among Belarusian phytopathologists. In this regard, in recent years local scientists have been monitoring the phytosanitary state of natural and managed plantations to identify alien species. The aim of this investigation was to monitor the phytosanitary state of conifers in botanical and dendrological gardens, urban plantations and tree nurseries in the Republic of Belarus, and assessment of the incidence of alien pathogens of pines. There were used light microscopy and molecular genetic techniques. As a result of our research the brown spot needle blight fungus, *Mycosphaerella dearnessii* was for the first time noted in the region of the Republic of Belarus in a consignment of imported plants of pines *Pinus mugo*, *Pinus nigra*, *Pinus ponderosa*. The disease was revealed both on young and adult plants in botanical gardens and nurseries. In the forests, urban greeneries *Mycosphaerella dearnessii* is currently not identified. The fungus affects not only the old, but also young needles, strongly inhibiting the growth of trees. Based on the investigation results we suppose that this disease can be dangerous for pinetums in our country.

Keywords: pine, native plants, imported plants, plants diseases, pathogenic fungi, alien species, *Mycosphaerella dearnessii*, mycological and molecular genetic technique

For citation: Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Pantelev S. V., Baranov O. Yu. New invasive specie of *Mycosphaerella dearnessii* in the composition of mycobiota of pine needles in the territory of Belarus. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 98–105 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-98-105>

Введение. Хвойные растения широко используются в Беларуси для благоустройства и озеленения населенных пунктов, выращиваются в ботанических и дендрологических садах, питомниках, на приусадебных участках. Посадочный материал хвойных растений завозится в республику в основном из европейских питомников. Известно, что на новые территории вместе с растениями проникают присущие им вредные организмы, которые представляют опасность не только для растений-интродуцентов, но и для аборигенных пород. По сообщениям ученых разных стран, обнаружены ранее не известные либо новые для конкретной страны болезни, которые причиняют существенный вред лесам и иным растениям либо способны его нанести [1–5]. Наша страна не исключение. В городских насаждениях, дендропарках, ботанических садах, питомниках республики выявлено большое количество болезней грибной, бактериальной и другой этиологии, которые способны нанести значительный ущерб жизнеспособности растений. Большинство болезней давно известны и хорошо изучены [6]. Однако в республике появились и распространяются новые виды вредных организмов, причем некоторые из которых уже успели адаптироваться к климатическим условиям Беларуси, что приводит к ослаблению, потере декоративных качеств, усыханию побегов и гибели растений [7–9].

Большую тревогу у фитопатологов вызывают вопросы, связанные с инвазией в естественные и искусственные насаждения хвойных видов растений патогенных грибов, способных вызывать гибель лесов, древесных насаждений (*Dothistroma septosporum*, *Mycosphaerella dearnessii*, *Phacidium pseudotsugae*, *Cyclaneusma minus*, *Cylindrocarpon destructans* и др.) [1]. Однако нет четкого представления о распространении новых опасных видов возбудителей болезней в питомниках, дендрологических и ботанических садах, городских посадках хвойных интродуцентов и в разновозрастных насаждениях сосны обыкновенной, которая является главной лесобразующей породой в республике. Уже существующие ботанические коллекции хвойных растений, интродуцированных в Беларусь в послевоенное время и в последующие годы, являются базой для исследования патогенной микофлоры, анализа особенностей развития инвазивных видов грибов в условиях республики. Видовой состав патогенных грибов в молодых и старых посадках, степень поражения растений позволяют судить о путях и сроках проникновения инфекции в насаждения, о вредоносности болезней.

Патогенный гриб *Mycosphaerella dearnessii* – возбудитель коричневого пятнистого ожога хвои сосны. Гриб, по-видимому, имеет американское происхождение, откуда и распространился на другие континенты [10, 11]. В настоящее время имеются сообщения о выявлении гриба в странах Европы, Азии, Северной и Южной Америки, Африки, Океании [3, 10, 12–14]. Он поражает разные виды сосен (*Pinus arizonica*, *P. canariensis*, *P. caribaea*, *P. contorta*, *P. elliotii*, *P. halepensis*, *P. maximinoi*, *P. muricata*, *P. nigra*, *P. palustris*, *P. pinaster*, *P. pinea*, *P. radiata*, *P. strobus*, *P. sylvestris*, *P. taeda*, *P. thunbergii*) как в естественных, так и в искусственных насаждениях [3, 11, 14]. Сведения о вредоносности гриба весьма противоречивы. Так, в Центральной Америке, где этот вид является аборигенным и распространен повсеместно, высокой степени поражения деревьев не отмечено. В то же время считается, что при попадании гриба на новые территории болезнь может наносить серьезный ущерб [11].

По имеющимся у нас сведениям, ранее этот вид на территории Беларуси не выявляли.

Цель работы – мониторинг хвойных видов растений (завозимый посадочный материал и уже существующие насаждения) на пораженность грибом *Mycosphaerella dearnessii*, оценка его встречаемости, потенциальной вредоносности, возможности к акклиматизации и распространению.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлись аборигенные и интродуцированные виды хвойных растений с симптомами поражения болезнями. Экспериментальный материал был собран в 2016–2019 гг. в насаждениях Центрального ботанического сада (ЦБС), ботаническом саду Витебского государственного университета, городских насаждениях Минска, областных городов, ряда районных центров республики, в лесных питомниках и дендросадах Гродненской, Минской, Брестской областей, в садовых центрах и декоративных питомниках, ввозящих посадочный материал из-за рубежа («Бровки» (Минская обл.), «Цидовичи», «Верасень» (Пригодичи), «Зеленый горизонт», «Европлант» (Гродненская обл.), «Красная гвоздика» (Гомель)).

В процессе обследования собирали пораженную хвою с пятнами, изменением окраски, сухую, мертвую, а также растущую хвою, задержавшуюся на мутовках, ветках, опавшую под кроны внешне здоровых деревьев; отмечали места точек сбора образцов. Отобранные образцы анализировали в лаборатории защиты растений ЦБС по общепринятым в фитопатологии и микологии методикам [15]. Видовую идентификацию выявленных микромицетов подтверждали методом баркодирования ДНК. Молекулярно-генетический анализ растительного материала производили по оригинальной методике [16]. В качестве диагностического маркера использовали регион рДНК грибов, включающий внутренние транскрибируемые спейсеры (18S рДНК – ВТС1 – 5,8S рДНК – ВТС2 – 28S рДНК). Данный маркер соответствует требованиям ДНК-баркодинга и является золотым стандартом молекулярной идентификации грибов [17]. Препараты суммарной ДНК из тканей хвои получали модифицированным СТАВ-методом [16]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с помощью набора DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific) и пары праймеров –ITS1F (5'→3')-CTTGGTCAATTAGAGGAAGTAA [18] и ITS4 (5'→3')-TCCTCCGCTTATTGATATGC [19], используя следующий режим амплификации: при 95 °С – 3 мин (1 цикл); при 95 °С – 30 с, при 55 °С – 20, при 72 °С – 45 с (35 циклов). Секвенирование ПЦР-продуктов осуществляли на базе генетического анализатора ABI Prism 310 (Thermo Fisher Scientific, США), видовую идентификацию – путем сравнения секвенированных нуклеотидных последовательностей с референсными депонентами базы данных Национального центра биотехнологической информации NCBI (США) [20].

При проведении обследования особое внимание уделяли растениям рода *Pinus*, что было обусловлено ростом заболеваемости сосновых насаждений болезнями, вызываемыми инвазивными видами патогенных грибов, в европейских странах и сопредельных государствах. В лесных питомниках ассортимент представлен в основном посевами сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*); в декоративных питомниках и садовых центрах – разными формами сосны горной (*P. mugo*), в меньшей степени – сосны черной (*P. nigra*) и другими видами; в городских насаждениях – посадками сосны горной, реже – сосны черной и очень редко – пятихвойных сосен. Большую часть исследований проводили в коллекционных насаждениях ЦБС, которые представлены в основном растениями, привлеченными из отечественных и зарубежных растениеводческих центров, в порядке обмена по делектусам, за счет экспедиционных сборов из мест естественного произрастания – *P. sylvestris*, *P. mugo*, *P. ponderosa*, *P. sibirica*, *P. strobus*, *P. hamata*, *P. nigra*, *P. kochiana*, *P. pallasiana* и др. [21].

Результаты и их обсуждение. Обследование разных видов сосны показало, что в большинстве случаев растения внешне выглядят вполне здоровыми и не имеют каких-либо ярких проявлений инфекционных болезней. Хвоя одно-трехлетнего возраста, как правило, имела зеленую окраску, иногда с незначительным хлорозом, связанным с воздействием абиотических факторов внешней среды. Кое-где, преимущественно на старой хвое внутри кроны, наблюдали изменение окраски на желтоватую, красноватую, бурую.

Характерные ярко выраженные симптомы поражения коричневым пятнистым ожогом хвои впервые наблюдали в августе 2018 г. в группе из нескольких экземпляров сосны горной *Pinus mugo* (возраст около 40 лет, высота 3–4 м), изолированно произрастающих в ландшафтной части ЦБС (рис. 1). По всей кроне на хвоинках отмечены желтые пятна и коричневато-бурые пятна ширококлиновидной формы или некротические полоски с желтой каймой (по 1–2, реже по 3 пятна или полоски на хвоинке) размером 1–3 мм. На некоторых хвоинках отмечали пожелтение и побурение верхней части. Внутри пятен на некротических участках хвои были видны плодоношения гриба, расположенные параллельно длине хвои, открывающиеся продольной щелью. Пораженная хвоя постепенно усыхала и при прикосновении легко осыпалась. Много опавшей хвои задерживалось на ветках в густой кроне сосны. Хвоя текущего года была зеленой, признаки болезни выявлялись на хвое прошлого года и более старой.

Микроскопирование показало наличие на хвое анаморфной стадии инвазивного вида гриба *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd. [= *Mycosphaerella dearnessii* M. E. Barr] – возбудителя коричневого пятнистого ожога хвои сосны. На зеленой хвое плодовые тела гриба (конидиомы) находились под эпидермисом или только начинали прорываться, на усыхающей хвое они уже были

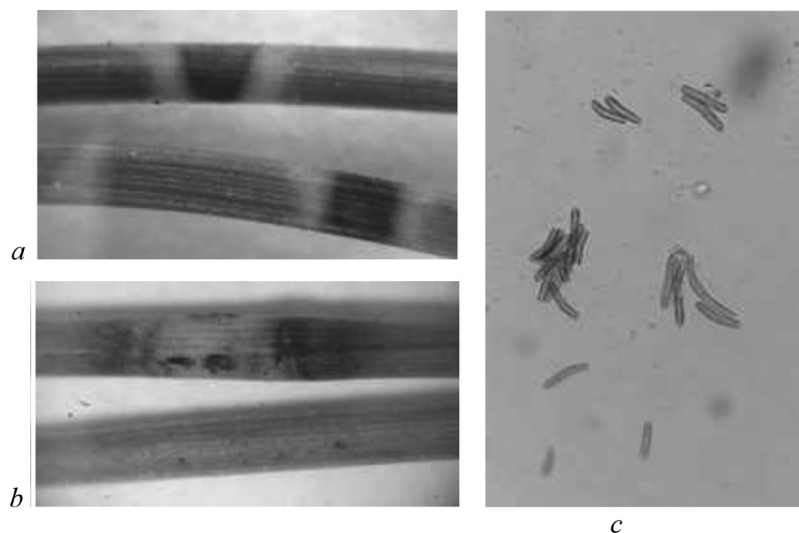


Рис. 1. Коричневый пятнистый ожог хвои сосны горной: *a* – характерные пятна на хвоинках; *b* – плоношения гриба под эпидермисом хвоинки; *c* – конидии гриба *L. acicola*

Fig. 1. Brown spot needle blight of *Pinus mugo* caused by *L. acicola*: *a* – brown spots and necrotic bands on needles; *b* – fructifications of *L. acicola* rupturing needle epidermis; *c* – conidia of *L. acicola*

хорошо сформированы. Конидии светлого цвета, толстостенные, разнообразны по форме (изогнутые, веретеновидные, цилиндрические), с 1–5 перегородками (чаще 3–4). Образования телеоморфной стадии гриба не выявлено.

В ходе ПЦР-анализа тканей хвои *P. mugo* получен многофракционный электрофоретический спектр ампликонов с молекулярным весом ≈ 580 –600 пар нуклеотидов (п. н.), что свидетельствовало о наличии в исследуемых образцах смешанной грибной инфекции (рис. 2).

Секвенирование выявленных ПЦР-продуктов и последующий сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей в базе данных BLAST NCBI позволил установить, что доминирующим видом в исследуемых образцах хвои являлся возбудитель коричневого пятнистого ожога гриба *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd. [= *Mycosphaerella dearnessii* M. E. Barr], которому сопутствовал комплекс видов *Cladosporium herbarum complex*.

Сравнение выявленных белорусских генотипов *L. acicola* между собой показало 100 %-ную генетическую идентичность по диагностическому локусу рДНК (18S рДНК – BTC1 – 5,8S рДНК – BTC2 – 28S рДНК). Полученные данные были депонированы в базу генного банка GenBank NCBI (США) с присвоением идентификационного номера. Сравнительный анализ белорусского генотипа *L. acicola* с депонентами генного банка NCBI показал 99,06–99,62 % генетической идентичности по маркерному региону со спектром штаммов, идентифицированных зарубежными учеными в странах Европы, Азии и США (см. таблицу).

С другими видами рода *Lecanosticta* процент идентичности диагностического региона рДНК депонированного штамма составлял 96 % и менее.

В 2018 г. также были обследованы сосны *P. mugo*, *P. nigra*, *P. ponderosa* в декоративном питомнике «Верасень» (Пригодици, Гродненская обл.) и сосна *P. nigra* в ботаническом саду Витебского государственного университета. Возраст исследованных растений, привезенных в основном из-за рубежа, составлял от 5 до 10 лет.

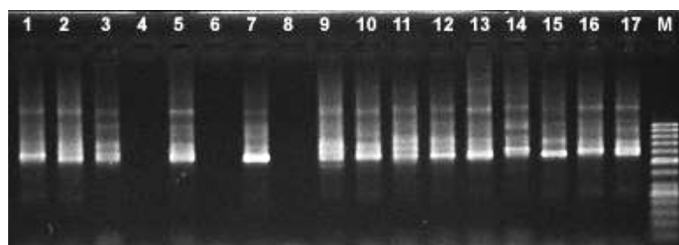


Рис. 2. Фрагмент ПЦР-спектра микромицетов хвои *P. mugo* с праймерами ITS1F/ITS4: 1–3, 5, 7, 9–17 – образцы хвои с признаками коричневого пятнистого ожога; 4, 6, 8 – образцы зеленой, визуально непораженной хвои; М – маркер молекулярного веса (50–1000 п. н.)

Fig. 2. PCR-spectrum with ITS1F/ITS4 primers obtained for fungal species of pine needles (*P. mugo*). Lanes: 1–3, 5, 7, 9–17 – brown spot needle blight on needles; 4, 6, 8 – green healthy needles; M – molecular weight marker (50–1000 bp)

Депоненты *L. acicola*, использованные при сравнительном генетическом анализе с учетом показателя 99–100 % перекрытия (Query Cover, NCBI) исследованного региона рДНК

Deposits of *L. acicola* used in comparative genetic analysis taking into account the 99–100 % overlap index (Query Cover, NCBI) of the rDNA region studied

Депонент NCBI/растение-хозяин	Страна происхождения (источник, год)	Номер депонента в базе NCBI/% идентичности
<i>Lecanosticta acicola</i> isolate CBG/ <i>P. mugo</i>	Беларусь (данное исследование)	MK621329
<i>Lecanosticta acicola</i> strain LecPolKR/ <i>P. mugo</i>	Польша (K. Raitelaityte и др., 2019)	MK936072/99,62
<i>Mycosphaerella dearnessii</i> strain LA733B/ <i>P. mugo</i>	Литва (S. Markovskaja и др., 2010)	HM367707/99,62
<i>Lecanosticta acicola</i> strain CBS 871.95/ <i>P. radiata</i>	Франция (P. W. Crous и др., 2009)	GU214663/99,62
<i>Mycosphaerella dearnessii</i> voucher KUS-F24881/ <i>P. thunbergii</i>	Корея (S. Seo и др., 2011)	JQ245448.1/99,62
<i>Lecanosticta acicola</i> CBS/ <i>P. strobus</i>	США (W. Quaedvlieg и др., 2014)	NR_120239/99,62
<i>Mycosphaerella dearnessii</i> / <i>Pinus</i> sp.	США (M. Catal, G. C. Adams, 2000)	AF260818/99,25
<i>Mycosphaerella dearnessii</i> / <i>Pinus</i> sp.	США (M. Catal, G. C. Adams, 2000)	AF260817/99,06

В питомниках они произрастали в контейнерах, в ботаническом саду – в грунте. Внешний вид сосен был удовлетворительным, молодая хвоя зеленого цвета. Признаки поражения болезнями были выражены неясно – пожелтение, побурение, пятнистость хвои 2–4-летнего возраста. Для дальнейшего изучения были отобраны образцы хвои как с растений, так и с опавшей хвои под кронами деревьев. Микроскопический анализ собранных образцов также показал заражение растений инвазивным видом *L. acicola*.

Дальнейшее наблюдение за группой *P. mugo* в ЦБС показало, что инфицированная хвоя постепенно отмирала. К началу зимы преждевременно осыпалась одно-трехлетняя хвоя, а в январе 2019 г. симптомы болезни проявились и на хвое текущего года. На такой относительно молодой хвое отмечены желто-бурые пятна, пожелтение и побурение верхней трети хвоинок. Доля молодой пораженной пятнистостью хвои составляла более 30 %. Внешне сосны выглядели угнетенными, с сильно изреженной кроной, пораженная хвоя была короче здоровой. При микроскопировании пораженной хвои также выявлен гриб *L. acicola*, конидии которого имели такие же морфологические признаки, как и у сформировавшихся летом.

Известно, что при низкой степени развития болезни поражается двух- и трехлетняя хвоя сосны, по мере накопления инфекции – и хвоя текущего года [22]. В то же время болезнь прогрессирует в период избытка осадков, так как споры рассеиваются только при дождливой погоде [10]. Полагаем, что быстрому нарастанию тяжести болезни в группе *P. mugo* способствовало не столько постепенное накопление инфекции, сколько благоприятные погодные условия 2018 г. (избыток осадков в период созревания и рассеивания конидий).

Согласно литературным источникам, потенциально все виды сосен могут поражаться данным грибом [3, 14]. Наиболее распространенными в европейском регионе являются *P. contorta*, *P. halepensis*, *P. muricata*, *P. palustris*, *P. pinaster*, *P. pinea*, *P. radiata*, *P. strobus*, *P. sylvestris*, *P. taeda*. В связи с большим видовым разнообразием сосен в насаждениях ЦБС в январе 2019 г. проанализировали образцы хвои *P. nigra* (возраст более 60 лет, высота 14–16 м) и *P. sylvestris* (около 90 лет, высота 20–22 м), растущими на расстоянии 15–30 м от заболевших экземпляров *P. mugo*. Хвою отбирали с веток нижней части кроны и под кроной деревьев. Внешне деревья выглядели здоровыми, имели ярко-зеленую хвою, а на отдельных нижних ветках наблюдалось ее незначительное побурение. Микроскопический анализ хвои не выявил заражения возбудителем коричневого пятнистого ожога. Молекулярно-генетическое обследование подтвердило полученные данные.

Обследование других видов сосен не показало наличия данного заболевания. И только в июле 2019 г. характерные симптомы коричневого пятнистого ожога хвои выявлены также в двух старых посадках деревьев сосны горной, растущих на значительном удалении (более 200 м) как от изучаемой группы сосен, так и друг от друга. Посадки отделены друг от друга смешанными древесными насаждениями высотой 20 м и более. Признаки болезни отмечены как на старой, так и на молодой хвое. Микроскопический анализ хвои подтвердил заражение грибом *L. acicola*.

Заключение. Обследование фитосанитарного состояния различных видов сосен в насаждениях ботанических садов, дендропарков, городов, лесных и декоративных питомников, садовых

центров республики, проведенное в 2016–2019 гг., позволило выявить и идентифицировать инвазивный патогенный гриб *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd. [= *Mycosphaerella dearnessii* M. E. Bart] – возбудитель коричневого пятнистого ожога хвои, опасной болезни сосен, приводящей во многих странах к тяжелым экономическим последствиям. Принадлежность выявленного микромицета к виду *L. acicola* верифицирована с использованием метода ДНК-штрихкодирования. Болезнь выявлена на отдельных экземплярах сосны горной, сосны черной и сосны желтой в насаждениях Центрального ботанического сада, ботанического сада Витебского государственного университета, декоративного питомника «Верасень» (Пригодичи, Гродненская обл.).

Гриб поражает не только старую, но и молодую хвою, не достигшую однолетнего возраста. Преждевременное опадение хвои отрицательно сказывается на росте, развитии и декоративных качествах растений. На основании полученных данных можно утверждать, что коричневый пятнистый ожог хвои сосны является потенциально опасной болезнью для сосновых насаждений республики.

Согласно полученным результатам исследования, в поражении молодой хвои главную роль играет не только накопление инфекции, но также дождливая погода в период созревания и рассеивания спор, условия произрастания (загущенные, плохо проветриваемые, слабо освещенные низкорослые посадки).

Выявление болезни на старых и молодых экземплярах интродуцированных видов сосен на территории организаций, так или иначе связанных с завозом растений из-за рубежа, свидетельствует о том, что этот вид проникает в страну вместе с посадочным материалом из зарубежных питомников, научных организаций. Не исключены и иные пути распространения: перемещение спор воздушными массами, насекомыми и др. В настоящее время в насаждениях городов присутствует небольшое количество сосен. Большинство растений из питомников и садовых центров поступает на личные участки физических лиц, что препятствует воссозданию полной картины о распространении коричневого пятнистого ожога хвои сосны на территории республики. Тем не менее, в связи с полученными данными о возрастании вредоносности гриба *Mycosphaerella dearnessii* необходимо безотлагательно разработать методы по ограничению его распространения на территории республики. Поскольку растения и продукция растениеводства и далее будут ввозиться в Беларусь, дальнейшее изучение и решение этих вопросов позволит обеспечить экологическую безопасность страны.

Список использованных источников

1. Жуков, А. М. Развитие лесной фитопатологии и новые угрозы для лесов России / А. М. Жуков, Ю. И. Гниненко // Лесохозяйств. информация. – 2014. – № 4. – С. 13–24.
2. CABI. Invasive species compendium. [Electronic resource]. – Mode of access : <https://www.cabi.org/isc>. – Date of access : 23.07.2019.
3. EPPO Global Database [Electronic resource]. – Mode of access : <https://gd.eppo.int>. – Date of access : 23.07.2019.
4. Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe (DAISIE) [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.europe-aliens.org>. – Date of access : 02.07.2019.
5. Invading nature. Springer series in invasion ecology / ed. J. A. Drake. – Dordrecht : Springer, 2009. – Vol. 3 : Handbook of alien species in Europe. – 421 p.
6. Болезни и вредители декоративных растений в насаждениях Беларуси / В. А. Тимофеева [и др.]; НАН Беларуси, Центр. ботан. сад; рец. Н. В. Гетко, Л. И. Трепашко. – Минск : Бел. наука, 2014. – 185 с.
7. Интерактивный мультимедийный определитель наиболее распространенных болезней в лесном фонде, питомниках и дендропарках [Электронный ресурс]. – Минск, 2014. – Режим доступа : <http://cd.intelico.info/>. – Дата доступа : 22.07.2019.
8. Головченко, Л. А. Болезни хвойных растений в насаждениях Беларуси / Л. А. Головченко, Н. Г. Дишук // Субтропическое и декоративное садоводство : науч. тр. / редсов. : А. В. Рындин (гл. ред.) [и др.]. – Сочи, 2017. – Вып. 63. – С. 159–165.
9. Инвазии чужеродных видов патогенных грибов в насаждениях Беларуси / Л. А. Головченко [и др.] // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира: материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 85-летию Центр. ботан. сада НАН Беларуси, Минск, 6–8 июня 2017 г. : в 2 ч. / НАН Беларуси ; Центр. ботан. сад ; редкол. : В. В. Титок [и др.]. – Минск, 2017. – Ч. 2. – С. 375–378.
10. Skilling, D. D. Brown spot needle disease – biology and control in Scotch pine plantations / D. D. Skilling, T. H. Nicholls // USDA Forest Science Research Paper. – 1974. – N 109. – 19 p.

11. PM 7/46 (3). *Lecanosticta acicola* (formerly *Mycosphaerella dearnessii*), *Dothistroma septosporum* (formerly *Mycosphaerella pini*) and *Dothistroma pini* // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. – 2015. – N 45, N 2. – P. 163–182. <https://doi.org/10.1111/epp.12217>
12. Jankovský, L. Brown spots needle blight associated with *Mycosphaerella dearnessii* occurs on *Pinus rotundata* in the Czech Republic / L. Jankovský, D. Palovčíková, M. Tomšovský // Plant Pathol. – 2009. – Vol. 58, N 2. – P. 398–398. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01999.x>
13. Markovskaja, S. Occurrence of new alien pathogenic fungus *Mycosphaerella dearnessii* in Lithuania / S. Markovskaja, A. Kačergius, A. Treigienė // Botanica Lithuanica. – 2011. – Vol. 17, N 1. – P. 29–37.
14. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory Fungus-Host Distributions Database. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service [Electronic resource]. – Mode of access : <https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/fungushost/fungushost.cfm>. – Date of access : 06.07.2019.
15. Методы экспериментальной микологии : справочник / И. А. Дудка [и др.] ; отв. ред. В. И. Билай. – Киев : Наук. думка, 1982. – 550 с.
16. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск : Юнипол, 2007. – 176 с.
17. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. / C. L. Schoch [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2012. – Vol. 109, N 16. – P. 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
18. Gardes, M. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts / M. Gardes, T. D. Bruns // Mol. Ecol. – 1993. – Vol. 2, N 2. – P. 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>
19. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T. White [et al.] // PCR protocols: a guide to methods and applications / ed. : M. A. Innis [et al.]. – San Diego [et al.], 1989. – P. 315–322.
20. National Center for Biotechnological Information, NCBI [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. – Date of access : 11.03.2019.
21. Центральный ботанический сад НАН Беларуси [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://cbg.org.by>. – Дата доступа : 09.07.2019.
22. Brown spot needle blight *Mycosphaerella dearnessii* M. E. Barr. 1972 [teleomorph] Ascomycota: Mycosphaerellaceae. A guide for diagnosis and detection of quarantine pests / Ministry of Jihad-e-Agricult., Plant Prot. Org. ; ed. : A. Cheraghian. – Bureau of Plant Pest Surveillance and Pest Risk Analysis, 2019. – 18 p.

References

1. Zhukov A. M., Gninenko Yu. I. The development of forest phytopathology and new threats to the forests of Russia. *Lesokhozyaistvennaya informatsiya = Forestry information*, 2014, no. 4, pp. 13–24 (in Russian).
2. CABI (2019). *Invasive species compendium*. Available at: <https://www.cabi.org/isc> (accessed 23 July 2019).
3. EPPO (2019). *EPPO Global Database*. Available at: <https://gd.eppo.int> (accessed 23 July 2019).
4. *Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe (DAISIE)*. – Available at: <http://www.europe-aliens.org> (accessed 2 July 2019).
5. Drake J. A. (ed.). *Handbook of alien species in Europe. Vol. 3. Invading nature. Springer series in invasion ecology*. Dordrecht, Springer, 2009. 421 p.
6. Timofeeva V. A., Dishuk N. G., Voinilo N. V., Linnik L. I., Golovchenko L. A., Getko N. V. *Pests and diseases of ornamental plants in plantations of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 185 p. (in Russian).
7. *Interactive multimedia key of the most common diseases in forests, nurseries and dendroparks*. Available at: <http://cd.intelico.info/> (accessed 22 July 2019) (in Russian).
8. Golovchenko L. A., Dishuk N. G. Diseases of conifers in the Republic of Belarus. *Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo: nauchnye trudy* [Subtropical and ornamental horticulture: scientific papers]. Sochi, 2017, no. 63, pp. 159–165 (in Russian).
9. Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Timofeeva V. A., Yarik I. V. Invasion of alien pathogens in plantations of Belarus. *Rol' botanicheskikh sadov i dendrarijev v sokhranении, izuchenii i ustoichivom ispol'zovanii raznoobraziya rastitel'nogo mira: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 85-letiyu Tsentral'nogo botanicheskogo sada Natsional'noi akademii nauk Belarusi (g. Minsk, 6–8 iyunya 2017 g.). Chast' 2* [Role of botanical gardens and arboreta in conservation, investigation and sustainable using diversity of the plant world: proceedings of the International scientific conference on the 85th anniversary of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (Minsk, June 6–8, 2017). Part 2]. Minsk, 2017, pp. 375–378 (in Russian).
10. Skilling D. D., Nicholls T. H. Brown spot needle disease – biology and control in Scotch pine plantations. *USDA Forest Science Research Paper*, 1974, no. 109. 19 p.
11. PM 7/46 (3). *Lecanosticta acicola* (formerly *Mycosphaerella dearnessii*), *Dothistroma septosporum* (formerly *Mycosphaerella pini*) and *Dothistroma pini*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 2015, no. 45, no. 2, pp. 163–182. <https://doi.org/10.1111/epp.12217>
12. Jankovský L., Palovčíková D., Tomšovský M. Brown spots needle blight associated with *Mycosphaerella dearnessii* occurs on *Pinus rotundata* in the Czech Republic. *Plant Pathology*, 2009, vol. 58, no. 2, pp. 398–398. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01999.x>
13. Markovskaja S., Kačergius A., Treigienė A. Occurrence of new alien pathogenic fungus *Mycosphaerella dearnessii* in Lithuania. *Botanica Lithuanica*, 2011, vol. 17, no. 1, pp. 29–37.

14. *Systematic Mycology and Microbiology Laboratory Fungus-Host Distributions Database*. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Available at: <https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/fungushost/fungushost.cfm> (accessed 6 July 2019).
15. Bilai V. I. (ed.). *Guide of the experimental mycology methods*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1982. 550 p. (in Russian).
16. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *The methods of molecular genetic technique*. Minsk, Unipol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
17. Schoch C. L., Seifert K. A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J. L., Levesque C. A., Chen W. [et al.]. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, vol. 109, no. 16, pp. 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
18. Gardes M., Bruns T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 1993, vol. 2, no. 2, pp. 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>
19. White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 1989, pp. 315–322. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>
20. *National Center for Biotechnological Information, NCBI*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed 03 March 2019).
21. *Central Botanical Garden of NAS of Belarus*. Available at: <http://cbg.org.by> (accessed 9 July 2019) (in Russian).
22. *Brown spot needle blight Mycosphaerella dearnessii M.E. Barr. 1972 [teleomorph] Ascomycota: Mycosphaerellaceae. A guide for diagnosis and detection of quarantine pests*. Available at: <http://ppo.ir/LinkClick.aspx?fileticket=2IzRIZozG8%3D&tabid=885> (accessed 30 July 2019).

Информация об авторах

Головченко Людмила Анатольевна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: luda_gol@yahoo.com

Дишук Наталья Георгиевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dishukn@rambler.ru

Пантелеев Станислав Викторович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: stasikdesu@mail.ru

Баранов Олег Юрьевич – д-р биол. наук, доцент, заведующий сектором. Институт леса НАН Беларуси (ул. Пролетарская, 71, 246050, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: betula-belarus@mail.ru

Information about the authors

Liudmila A. Golovchenko – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: luda_gol@yahoo.com

Natalia G. Dishuk – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dishukn@rambler.ru

Stanislav V. Panteleev – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: stasikdesu@mail.ru

Oleg Yu. Baranov – D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Sector. Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (71, Proletarskaya Str., 246050, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: betula-belarus@mail.ru

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 577.3
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-106-118>

Поступила в редакцию 16.10.2019
Received 16.10.2019

И. Д. Волотовский, Д. А. Ермоленко, Н. И. Горохова

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

**ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК.
ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ПЕЧЕНИ**

Аннотация. В обзоре приведены последние данные по эпигенетическому контролю дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток, лежащего в основе эмбриогенеза и регенеративных процессов в организме. Эпигенетический контроль базируется на трех внутримолекулярных механизмах – метилировании ДНК, структурной модификации белков гистонов и действии микроРНК на посттранскрипционных и посттрансляционных уровнях. В качестве примера рассмотрены вопросы дифференцировки стволовых клеток в печени.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, дифференцировка, эпигенетика, метилирование ДНК, структурная модификация гистонов, микроРНК, стволовые клетки печени

Для цитирования: Волотовский, И. Д. Эпигенетический контроль дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток. Дифференцировка стволовых клеток в печени / И. Д. Волотовский, Д. А. Ермоленко, Н. И. Горохова // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 106–118. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-106-118>

Igor D. Volotovskii, Darya A. Ermolenko, Nadezhda I. Harokhava

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

**EPIGENETIC CONTROL OF DIFFERENTIATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS.
STEM CELLS DIFFERENTIATION IN LIVER**

Abstract. The recent data on epigenetic control of differentiation in mesenchymal stem cells to be the background of embryogenesis and regeneration process in organism are considered. Epigenetic control is bases on three intramolecular mechanisms – DNA methylation, structural modification of histone proteins and microRNA active on posttranscription and posttranslation levels. As an example, the issues of stem cell differentiation in the liver are considered.

Keywords: mesenchymal stem cells, differentiation, epigenetics, DNA methylation, histone structural modification, microRNA, stem cells in liver

For citation: Volotovskii I. D., Ermilenko D. A., Harokhava N. I. Epigenetic control of differentiation of mesenchymal stem cells. Stem cells differentiation in liver. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 106–118 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-106-118>

Введение. Дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток (МСК) является стартовым событием в образовании специализированных соматических клеток и формировании тканей и органов. Известно, что дифференцировка запускается продуктами экспрессии специфических генов, которая в преддифференцировочный период подавлена. Данные продукты индуцируют сложный комплекс внутриклеточных процессов, благодаря которым исходная МСК превращается в клетку, очень далекую от МСК не только фенотипически, но и структурно, а также морфологически и обладающую рядом новых параметров, хотя генотип обоих типов клеток (стволовых и специализированных) одинаков.

Следует отметить также одно очень важное обстоятельство: МСК в реальных условиях не являются суспензией клеток, статистически распределенных в тканях и органах, а, входя в состав так называемых ниш, находятся в окружении других клеток, кровеносных сосудов и нервных окончаний, которые вовлекают МСК в уникальные межклеточные взаимодействия. В их режиме МСК делятся, самообновляются и, самое главное, вступают на путь дифференцировки, завершающейся образованием зрелой, функционально активной специализированной клетки. В каждой ткани или органе имеются свои ниши. Их количество невелико, если учесть, что в зрелой ткани или органе на 1 млн специализированных клеток приходится одна МСК. Рассматривая нишу как многоклеточный специализированный компонент ткани, нужно учитывать еще один важный момент. Сама ниша и входящие в ее состав стволовые клетки находятся под влиянием разнообразных сигнальных стимулов, поступающих как изнутри организма (из тканей и органов), так и извне. Задача этих сигналов – держать МСК под жестким контролем, определяя их дальнейшую «судьбу». В целом, все многообразие сигналов проявляется включением и выключением экспрессии определенных генов в геноме клетки, которая реализуется в ее морфологическом или фенотипическом «портрете».

Мишени для сигналов имеют двоякую локализацию. Одни из них находятся в самих генах, и их структурная модификация ведет к изменениям на уровне генетического кода, т. е. к мутациям. Другие не связаны с генетическим контролем структурных участков генов и находятся вне структуры (экзонов и интронов) на уровне промоторных участков, структурных компонентов хромосом и, как принято считать, осуществляют эпигенетический контроль экспрессии генов. Примечательно, однако, что результаты и генетического, и эпигенетического контроля экспрессии генов наследуются.

Термин «эпигенетика» ввел в 1942 г. Конрад Уоддингтон для описания взаимодействия между генотипом и окружением, которые совместно определяют характеристические признаки организма, т. е. его фенотип. Существует множество определений эпигенетики, однако все они акцентируют внимание на одном важном моменте – изменение экспрессии гена происходит без изменения природы и последовательности нуклеиновых оснований ДНК.

Эпигенетический механизм контроля включает три группы экспрессии генов: а) метилирование ДНК; б) модификацию гистонов и хромосом через их метилирование и ацетилирование; в) некодирующие РНК, к которым относятся длинные некодирующие РНК (lncRNA), малые некодирующие РНК (sncRNA), включающие микроРНК (micRNA) и малые интерферирующие РНК (siRNA). Некоторые исследователи к эпигенетическим факторам контроля относят транскрипционные факторы и прионы [1]. Эпигенетические механизмы функционируют по типу включателя/выключателя [2]. Однако способность клетки к развитию, коммитированию стволовости/направленности дальнейшей дифференцировки, т. е. глубина структурно-функциональных перестроек напрямую зависит от активности специализированных генов, ответственных за направленность процессов. Наглядным примером этого является нейрогенная дифференцировка МСК, которая контролируется двумя генами: *НЗК27ac* и *НЗКme3*.

Итак, эпигенетика – это набор наследуемых изменений, контролирующих экспрессию без изменения природы и чередования нуклеиновых оснований в ДНК через структурно-функциональную модификацию экспрессии с помощью метилирования ДНК в промоторных участках генов, перестроек на уровне хроматина и его ремоделирования и микроРНК, вмешивающихся в процесс экспрессии генов на уровне созревания мРНК [1]. Все это модифицирует пространственную архитектуру структурных компонентов.

Мезенхимальные стволовые клетки. МСК относят к популяции взрослых стволовых клеток, которые благодаря своему многообещающему потенциалу являются наиболее широко изучаемым объектом клеточной биологии в настоящее время. Находясь в депонированном состоянии в нишах тканей и органов, они могут пролиферировать и дифференцироваться по крайней мере по трем каноническим направлениям: остео-, хондро- и адипоцитогенному. В организме имеется несколько клеточных депо, в которых количество МСК относительно велико. Это жировая ткань, костный мозг и ткань пуповинного канатика. Тем не менее во всех органах и в других тканях они представлены в исчезающе малых количествах.

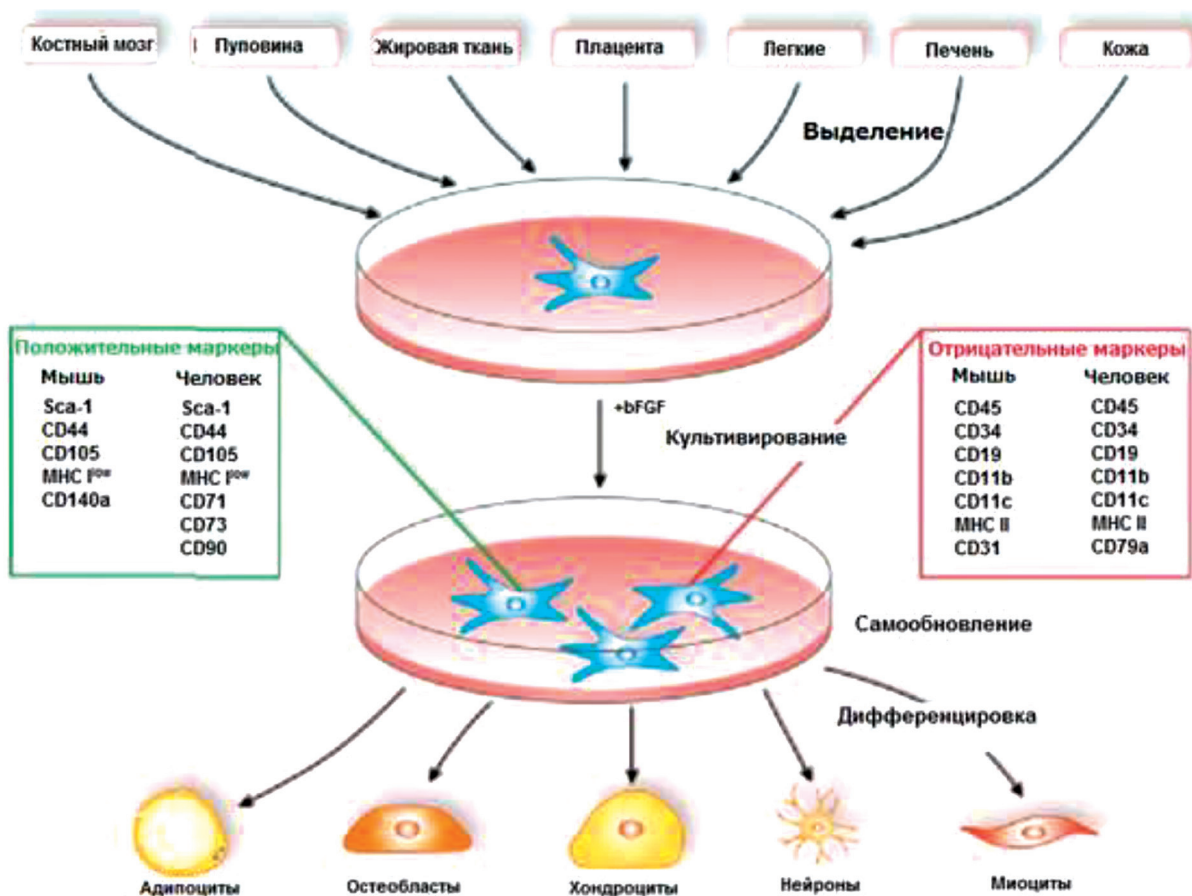


Рис. 1. Схема, описывающая процесс культивирования биологических источников МСК и пути дифференцировки этих клеток [4]. В рамках приведены позитивные и негативные маркерные белки, используемые для фенотипической характеристики стволовых клеток

Fig. 1. Diagram describing the process of culturing biological sources of MSCs and ways of differentiation of these cells [4]. The framework provides positive and negative marker proteins used for phenotypic characterization of stem cells

Согласно критериям Международной ассоциации клеточной терапии (ISCT), к МСК относят: а) выделенные из клеточных депо и очищенные клетки, которые адгезируют к пластику; б) клетки, обнаруживающие позитивную реакцию к маркерным моноклональным антителам CD105, CD90, CD73, слабую позитивную реакцию к MHC-I и негативную реакцию к MHC2, CD11, CD14, CD34, Cd45, CD31; в) клетки, дифференцирующиеся по трем указанным выше направлениям [3]. Изолированные МСК, согласно критериям ISCT, представляют собой гетерогенную неклоновую культуру стромальных клеток с различными мультипотентными свойствами, коммитированных прогениторных и дифференцированных клеток (рис. 1). При культивировании МСК чистота в ходе пассажей культуры растет. На практике при получении МСК ограничиваются двумя-тремя пассажами.

Метилирование ДНК. Метилирование ДНК – ключевой процесс эмбриогенеза и нормального развития и наиболее широко изучаемый вариант эпигенетического контроля. Показано, что с метилированием ДНК сопряжена экспрессия генов, инактивация X-хромосомы, геномный импринтинг, поддержание структуры хроматина, «замалчивание» транспозонов, укорочение длины теломеров. Биохимически метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину в С5 положении, реакция катализируется консервативной метилтрансферазой, DNMT1 и тремя метилтрансферазами, образованными *de novo*: DNMT3a, DNMT3b, DNMT3e. Донором метильной группы ($-CH_3$) является S-аденозинметионин. В результате образуется 5-метилцитозин. Обратное деметилирование (5mC) происходит через несколько последовательных реакций: сначала 5mC окисляется деоксигеназой (TET) в 5-гидроксиметилцитозин (5hmC), после чего окисляется до карбиксиметилцитозина (cahmC) и формилметилцитозина (fahmC), а затем превращается в 5mC (рис. 2).

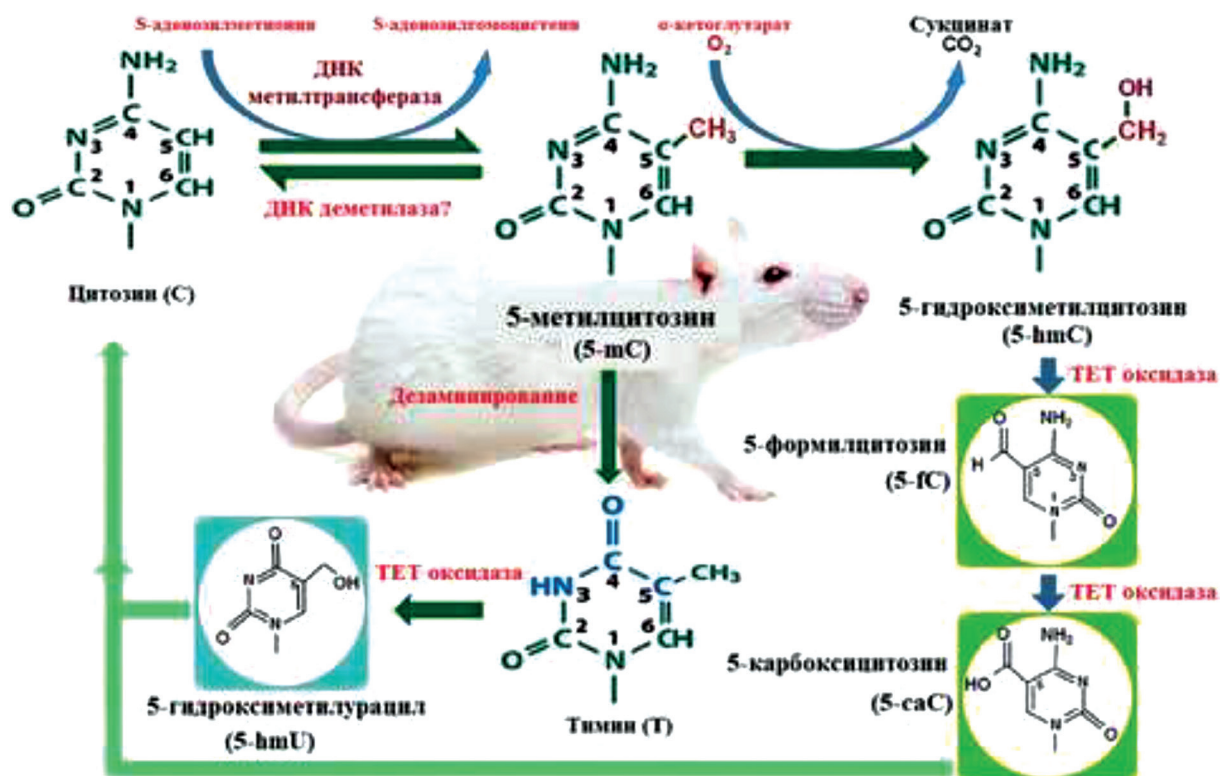


Рис. 2. Последовательность биохимических реакций, лежащих в основе метилирования ДНК [6]

Fig. 2. The sequence of biochemical reactions underlying DNA methylation [6]

Преимущественно метилируются остатки цитозина в составе так называемых цитозин-гуаниновых (CpG) островков в промоторных участках генов, что приводит к подавлению их транскрипции. Из указанных выше трансфераз именно DNMT3a ответственна за катализ метилирования цитозина в C5 положении [5].

Последовательности ДНК, богатые CpG-островками, обнаружены в областях промоторов или вблизи них. У многих генов человека метилирование указанных участков обуславливает репрессию этих генов. Однако эта связь не всегда простая. Гены, у которых CpG-островки деметилированы, часто не экспрессируются, в то время как гены с метилированными промоторами транскрибируются [7]. Постулируются два механизма контроля экспрессии генов через метилирование ДНК: а) метилирование ДНК не дает транскрипционным факторам связываться с геномом, т. е. блокирует транскрипцию; б) метилированные CpG динуклеотиды распознаются белками, содержащими метил-CpG связывающие домены (MBD), такими как белок MBD1 и MvCP2, которые активно блокируют эти сайты, что приводит к подавлению экспрессии генов [5, 8]. MBD-белки или сами блокируют транскрипцию, или действуют в кооперации с ферментами, ответственными за модификацию гистонов.

Традиционно метилирование ДНК рассматривается как стабильная, необратимая эпигенетическая модификация. Однако это не так. Цитозин может деметилироваться по активному и пассивному вариантам. Активное деметилирование осуществляется ферментом TET1 – tet-метилцитозиноксидазой, катализирующей превращение 5-метилцитозина в 5-гидрометилцитозин [9], а пассивный процесс реализуется через подавление активности фермента DNMT1. Большое количество данных было получено при изучении особенностей метилирования ДНК при развитии нервной системы у экспериментальных животных [6], что позволило лучше понять механизм эпигенетического контроля при дифференцировке стволовых клеток [7].

Модификация гистонов. В основе модификации гистонов находятся реакции посттрансляционной модификации (ацетилирование, метилирование, убиквитинирование, сумолирование, фосфорилирование N-терминальных концов гистонов), приводящие к АДФ-рибозилированию, деими-

нированию, изомеризации пролина, протонированию, цитрулинированию [10]. Как видно, набор ферментов, атакующих гистоны в составе нуклеосомы, очень широк, поэтому нередко та или иная ферментативная модификация гистонов приводит как к положительным, так и к отрицательным эффектам. Например, ацетилирование остатков лизина гистоновой ацетилтрансферазой снижает напряженность ДНК-спиралей и способствует транскрипции, в то время как удаление ацильных групп гистоновой деацетилазой (HDAC) обуславливает «замалчивание» генов. В то же время метилирование остатков лизина и аргинина в гистонах может активировать или подавлять транскрипцию в зависимости от локализации мишеней метилирования в макромолекуле гистона [11].

Нуклеосомы – основная повторяющаяся единица структуры хроматина, построенная из ДНК и связанных с ней макромолекул гистоновых белков. Отрезок ДНК, состоящий из 146 нуклеиновых оснований (н. о.), свернут в левостороннюю альфа-спираль, которая обволакивает гистоновый октамер, состоящий из $(H3-H4)_2$ -тетрамера и H2A-H2B димера. Нуклеосомы связаны между собой линкером – цепочкой ДНК, ассоциированной с гистонами H1. Гистоны – небольшие щелочные белки, включающие С-терминальный домен и N-терминальный «хвост», – заряжены положительно и экспонированы наружу. «Хвост» богат лизиновыми и аргининовыми аминокислотными остатками и играет важную роль в стабилизации структуры нуклеосомы и хроматина. Изменение на уровне структуры гистонов и хроматина нарушает доступность различных факторов к ДНК. Посттрансляционная модификация белковых компонентов базируется на их химической модификации, субъединичном составе, конформации отдельных нуклеосом и свернутом контуре мультинуклеосомного хроматинового «волокна» (бусы на нити).

В целом, система контролируется четырьмя регуляторными механизмами: а) действием АТФ-зависимых ферментов ремоделирования, изменяющих конформационное состояние нуклеосомы и сдвигающих их в сторону от ДНК; б) влиянием структурно модифицированных вариантов гистонов, появление которых в нуклеосоме нарушает ее стабильность и взаимодействие с другими регуляторами хроматина; в) эффектом ковалентных модификаторов гистонов, которые меняют число аминокислотных остатков во всех гистоновых белках; г) действием таких белков стабилизации «архитектуры» хромосомы, как когезин и конденсин. В целом, посттрансляционная модификация белковых компонентов нуклеосомы нарушает структурную организацию хроматина и тем самым регулирует разные процессы на уровне генетического аппарата, а именно: ДНК-репликацию и формирование хроматинового ансамбля после репликации, транскрипцию и ДНК-репарацию [12]. T. Jenuwein, O. D. Allis [13] сформулировали так называемую гипотезу гистонного кода, согласно которой различные комбинации модификаций гистонов могут приводить к разным результатам. Более того, их взаимодействие друг с другом может быть как синергическим, так и антагонистическим.

В посттрансляционной модификации гистонов участвует три типа ферментов. Первый тип – ферменты, катализирующие присоединение метильных, ацильных и других групп к гистоновым «хвостам» (например, PRC2, SUV39H, DOT1L, обладающие метилтрансферазной активностью). Второй тип – белки, которые специфически связываются с определенными сайтами в молекулах гистонов, после чего запускаются процессы их деградации (например, убиквитинизация). К третьему типу относятся ферменты деметилазы и деацетилазы, которые элиминируют результаты посттрансляционной модификации [14]. Около 580 регуляторов гистонов из 8 модельных организмов классифицированы по определенным семействам и включены в банк данных [15].

Ацетилирование гистонов связано с лизиновыми остатками в N-терминальных «хвостах» гистона H3 (4 остатка) и гистона H4 (4 остатка) (рис. 3). В этой ферментативной реакции донором ацильной группы является ацетилкоэнзим А, при этом изменяется заряд «хвоста» и уменьшается интенсивность электростатического взаимодействия между положительно заряженными молекулами гистонов и отрицательно заряженной цепочкой ДНК. Кроме того, ослабляется связывание гистонов H3 и H4 с линкером – гистонами H1, который контролирует деконденсацию хроматина, а следовательно, и связывание транскрипционных факторов с ДНК. Другими словами, профили ацетилирования у эухроматина и гетерохроматина различны. Уровень ацетилирования гистонов – результат динамического процесса, определяемого ацетилтрансферазами (НАТ) и деацетилазами (HDAC). Идентифицированные у животных 8 ферментов типа HDAC разделены на четыре группы.

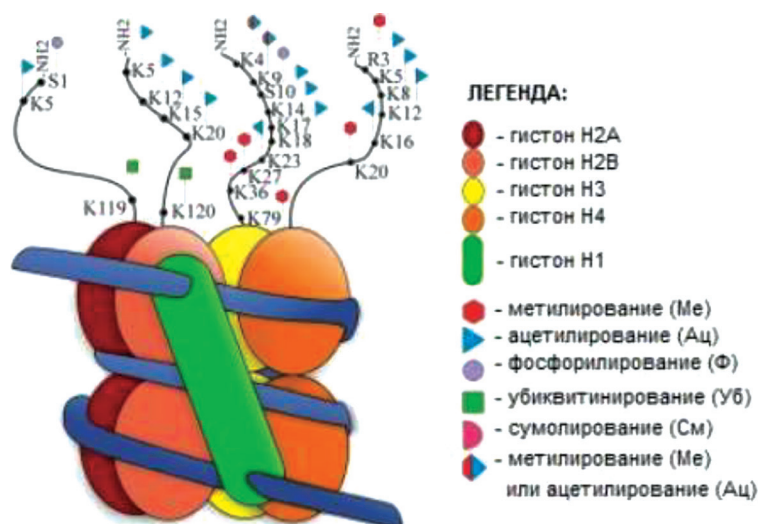


Рис. 3. Схема нуклеосомы, в гистонах которой в составе «хвостов» содержатся сайты метилирования и ацетилирования [13]

Fig. 3. Scheme of a nucleosome containing methylation and acetylation sites in the “tails” of its histones [13]

Ферменты первой группы локализованы только в ядре, остальные встречаются как в ядре, так и в цитоплазме [16]. Группе ферментов HDAC придается самостоятельное значение. Более того, как полагают, системы метилирования и ацетилирования гистонов могут взаимодействовать друг с другом, превращая основу регуляторного ответа в «мозаичную» палитру стартового процесса. Совершенно естественным оказалось использование ингибиторов HDAC (теперь ингибиторы эпигенетических факторов называются эпигенетическими лекарствами). В качестве примера такого лекарства можно привести гивиностат, который, как показали результаты клинических испытаний, подавляет прогрессирование миодистрофии Дюшена. К сходным эффектам приводят также такие лекарства, как трихостатин и вальпроевая кислота.

МикроРНК. Обнаружение микроРНК (miRNAs) в 1993 г. открыло эру новых регуляторных молекул. На протяжении последующих лет было идентифицировано большое количество разных малых РНК. Их классифицировали по механизму биогенеза, размерам, особенностям чередования в структуре нуклеотидов и роли в процессах биологической регуляции [17].

МикроРНК, небольшие некодирующие молекулы РНК, содержащие 20–22 нуклеотида, участвуют главным образом в посттрансляционной регуляции экспрессии генов. МикроРНК образуются в ядре с помощью РНК-полимеразы II в виде молекул-предшественников, получивших название премикроРНК, затем они транскрибируются в цитозоле, где принимают типичную для них длину из 22 н. о. в виде двухцепочечной макромолекулы. Эта реакция катализируется рибонуклеазой III (Dicer). После этого ее направляющая цепочка образует комплекс RISC (RNA-induced silencing complex), а вторая цепочка деградирует. Регуляторный эффект происходит после комплементарного связывания микроРНК с мРНК-мишенью, что приводит к ее разрушению. Следует отметить, что описанные события происходят в цитоплазме клетки. Однако у микроРНК имеются и ядерные функции. Установлено, что микроРНК может взаимодействовать с рибосомальной РНК, что отражается на свойствах рибосом – способности 45S-субъединицы реагировать на действие различных регуляторных белков. И наконец, микроРНК могут контролировать экспрессию генов непосредственно на транскрипционном уровне. При этом ключевая роль в этой активности отводится 5-seed-области микроРНК – пяти нуклеотидам в ее структуре, расположенным на уровне 2–8-го положения с 5-конца цепочки. Кстати, структура этого участка имеет ключевое значение для всех видов активности микроРНК.

Таким образом, микроРНК выступают в роли эпигенетического регулятора белкового продукта экспрессии гена [18]. Более того, микроРНК в состоянии контролировать и два описанных выше механизма эпигенетической регуляции – ДНК-метилирование и ацетилирование гистонов,

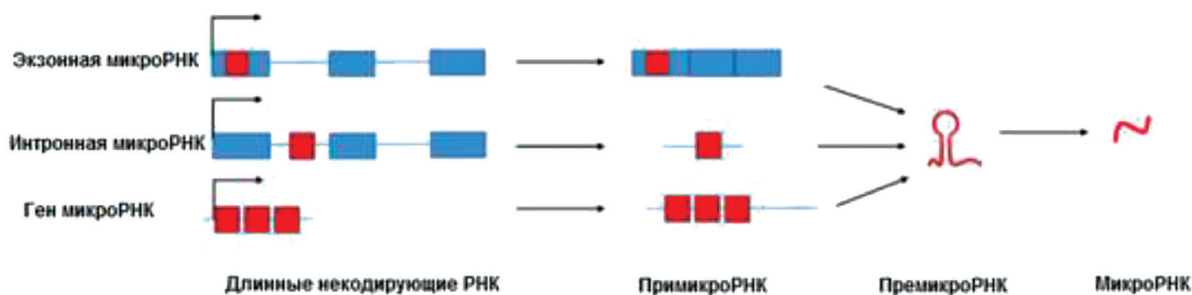


Рис. 4. Схема образования микроРНК в геноме [19]

Fig. 4. Scheme of microRNA formation in the genome [19]

действуя на ферменты DNMT и HDAC 1 и 4 через их мРНК. На рис. 4 приведен механизм образования микроРНК в клетке.

Многие гены длинные некодирующие РНК содержат в себе нуклеотидные последовательности микроРНК, которые могут находиться в составе экзонов или интронов. МикроРНК кодируются независимыми транскрипционными единицами, часто объединенными в геноме в кластеры [20]. В ходе транскрипции образуются три первичных транскрипта, однако все три пути конвергируют на уровне премикроРНК [19].

Совершенствование методов секвенирования геномов позволило обнаружить такой парадоксальный факт, что в геноме транскрибируется гораздо больше последовательностей, чем ожидалось. Выявлено необычайно большое количество некодирующих генов и, следовательно, транскриптов неопределенной функции [19], которые получили название темного материала (dark matter). Его значительной частью являются некодирующие РНК, которые не несут в себе информации о строении белков и никогда не транскрибируются. Выделяют две группы таких РНК: длинные и короткие некодирующие ДНК. Короткие некодирующие РНК включают в себя микроРНК, малые интерферирующие РНК и PIWI-взаимодействующие РНК. При попытке дать общую характеристику этому виду генных продуктов сам собой напрашивается следующий гипотетический вывод: геном следует рассматривать не как линейную последовательность транскрипционных единиц, а как удивительно сложную мозаику переплетенных и перекрывающихся транскрибируемых последовательностей не только в противоположных цепочках ДНК, но и в одной и той же цепочке, причем зачастую нет четкого различия между состыкованными вариантами и перекрывающимися соседними генами.

Перейдем теперь к рассмотрению молекулярной регуляции дифференцировки МСК на примере их превращения в адипоциты и остеобласты внутри канонической триады дифференцировки. Дифференцировка МСК представляет собой двухстадийный процесс, который включает: а) коммитирование стволовых клеток в прогениторные клетки [20]; б) созревание прогениторных клеток в специализированные клетки [21].

В реализации первой стадии принимают участие несколько критических сигнальных механизмов, в основе которых – использование разнообразных биологически активных факторов: TGF β , морфогенетического сигнального белка костной ткани BMP, транскрипционных факторов Wnt, Hh, Notch, а кроме того, важная роль отводится и микроРНК. Следует напомнить, что МСК находятся в нишах и именно на их уровне формируется сложная сеть сигналов, запускающих или подавляющих дифференцировку в нужном для организма направлении. Более определенной выглядит роль микроРНК, которые активируют или подавляют конкретное направление дифференцировки (см. таблицу).

Какие же факторы влияют на процесс дифференцировки? Точнее говоря, какую стадию коммитирования прогениторных клеток они запускают? Факторы, влияющие на МСК в нише, имеют разную природу – химическую, физическую и биологическую. К химическим следует отнести как эндогенные, так и экзогенные низкомолекулярные биологические соединения – IBMX, β GP, дексаметазон, индометацин, L-аскорбиновую кислоту, инсулин; к физическим – форму клетки, механическую пластичность, структуру и состояние экстраклеточного матрикса,

Роль микроРНК в регуляции дифференцировки МСК [20]
Role of miRNAs in the regulation of differentiation of MSCs [20]

МикроРНК	Белок, кодируемый геномом-мишенью	Эффект
miR-20a	TGFBR2 KDM6B	↑A ↑A
miR-26a	Smad1 GSK3β Tob1	↓O ↑O ↑O
miR-30e	LRP6 IGF2	↑A ↓O ↓O
miR-140	^b NEAT1 (incRNA)	↑A
miR-153	BMPR2	↓O
miR-188	HDAC9 RICTOR	↓O ↑A
miR-194	COUP-TFII	↑O ↑A
miR-199a-5p	N/A	↑O
miR-216a	c-Cbl	↑O
miR-223	FGFR2	↑A ↓O
miR-320	Runx2	↑A ↓O
miR-375	N/A	↑A
miR-455-3p	Runx2	↑CH

Примечание. ↑ – активация, ↓ – ингибирование, А – адипогенез, О – остеогенез, СН – хондрогенез.

пространственную локализацию критических структур, мембранный потенциал; к биологическим – возраст клетки, продукты метаболизма [20]. Конечно, действие перечисленных факторов сбалансировано таким образом, чтобы направить дифференцировку в нужном, с точки зрения интересов организма, направлении: если речь идет о костной ткани – в остеогенном, если о жировой – в адипогенном. Что же произойдет при нарушении этого баланса? Возникнут проблемы. Предварительный ответ на этот вопрос дают результаты опытов Р. Meunier с соавт. [22], ранее изучавших соотношение остеогенной и адипогенной дифференцировки стволовых клеток костного мозга. Оказалось, что в случае сдвига в сторону адипогенности содержание в кости адипоцитов относительно остеобластов растет, как это имеет место, например, при остеопорозе. Сдвиг баланса нарушает все стадии процесса: запуск, коммитирование и образование остеобластов, т. е. формирование костной ткани. Можно предположить, что именно в разбалансировке кроются многие патологии костной ткани, включая остеопороз.

Дифференцировка МСК как инструмент получения клеток печени (гепатоцитов). При заболеваниях печени и в первую очередь при острой печеночной недостаточности внимание исследователей привлекает клеточная терапия, так как в области гепатологии до последнего времени не было практически никакой альтернативы трансплантации печени как лечебного приема, позволяющего спасти жизнь пациента. Росту такого интереса способствовали два обстоятельства: отсутствие полной информации о природе и биологии резидентных стволовых клеток печени (некоторые исследователи относят к ним так называемые овальные клетки) и способность МСК костного мозга и жировой ткани трансдифференцироваться в другие типы специализированных клеток наряду с их превращением в канонические типы клеток: адипоциты, остеобласты и хондробласты. Именно по этой причине были предприняты попытки разработать протоколы дифференцировки МСК в гепатоциты и холангиоциты *in vitro*.

Метаболические и синтетические функции печени обусловлены в основном влиянием гепатоцитов, на которые приходится порядка 60 % клеточного пула органа и которые занимают 80 %

от его объема [23, 24]. Другим важным типом печеночных клеток являются билиарные эпителиальные клетки – холангиоциты, образующие печеночные протоки разного уровня, по которым образующаяся в гепатоцитах желчь транспортируется в конечном счете в двенадцатиперстную кишку. Общим предшественником этих двух типов печеночных клеток являются гепатобласты – основные прогениторные клетки печени. Для гепатобластов характерны некоторые типичные для них признаки – экспрессия транскрипционных факторов *Hes* и *HNF4 α* и белков альфа-фетопротеина и альбумина. К сожалению, до сих пор в печени не обнаружены резидентные стволовые клетки типа МСК, характеризующиеся определенными маркерными признаками. Именно поэтому в литературе обычно говорят о прогениторных клетках, рассматривая их в роли гепатобластов. Запутанность ситуации усугубляется и тем, что ткань печени сама обладает высокой регенеративной способностью. Так, например, при механическом повреждении или экспериментальной гепатэктомии она в состоянии восстанавливать свою структурную и морфофункциональную целостность благодаря, по всей видимости, тому, что гепатоциты способны претерпевать до 80 удвоений.

В настоящее время в рамках указанной проблемы рассматриваются две ситуации. Согласно представлениям, основанным на данных по эмбриогенезу у грызунов, гепатобласты – главные прогениторные клетки печени – образуются из прогениторных клеток мезотелия и эндодермы с участием разнообразных субклеточных факторов (факторов роста, низкомолекулярных регуляторных белков и даже клеток – фибробластов). Другим интересным моментом является обнаружение в печени грызунов и человека особых эпителиальных клеток, получивших из-за своей формы название овальных [25]. Они тоже обладают способностью к делению и участвуют в формировании желчных протоков, а кроме того, так же как гепатоциты и холангиоциты, экспрессируют альбумин и цитокератин 19. Однако информации об овальных клетках совсем немного, поэтому вопрос об их биологической роли все еще остается предметом дискуссий. Тем не менее, очевидно, что прогениторные клетки печени независимо от их природы дифференцируются билатерально в гепатоциты и холангиоциты – основные функционально активные клеточные компоненты печени.

Возвращаясь к протоколам дифференцировки МСК в клетках печени, следует отметить, что, независимо от того, какие клетки были взяты в качестве исходного материала (костномозговые, жиротканые или пуповинные), опыты *in vitro* увенчались успехом. Оказались успешными и опыты по дифференцировке гепатоцитов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток [4]. В данной ситуации полученные дифференцированные МСК стали называть не гепатоцитами, а гепатоподобными клетками (ГПК).

Культуральная среда для дифференцировки МСК из жировой ткани достаточно сложная и включает набор ростовых факторов HGF, EGF, TGF, ITS (селен-цитозин трансферин), OSM (онкостатин) и дексаметазон (рис. 5). В методиках дифференцировки МСК из других источников использовали диметилсульфоксид или 5-азоцитидин. Последний, как известно, является деметилирующим реагентом [4].

ГПК характеризуются новыми приобретенными признаками: гепатоцитоподобной морфологией, экспрессией специфичных для гепатоцитов маркерных генов, наличием в их структуре гликогена и альбумина, окрашиванием клеток в зеленый цвет индоцианином, секрецией мочевины и активностью цитохрома P-450.

О том, что МСК дифференцируются в ГПК *in vivo*, данные противоречивы. Стойкая трансдифференцировка не регистрируется, если МСК человека трансплантируют в печень мыши. Судя по результатам одних работ, никакой дифференцировки трансплантированных МСК к печени крыс не происходит, а согласно другим данным, дифференцировка все же имеет место. Появились работы, в которых МСК могут приживаться и, следовательно, дифференцироваться в гепатоциты, если печень повреждена, т. е. само повреждение является пусковым сигналом дифференцировки [24].

Серьезным препятствием для разработки клеточных технологий лечения заболеваний печени являются существенные пробелы в понимании природы печеночных стволовых клеток. До сих пор нет ясности, имеются ли в ткани печени резидентные стволовые клетки, аналогичные МСК, обнаруженным в других тканях, хотя твердо установлено, что прогениторные клетки (предшественники

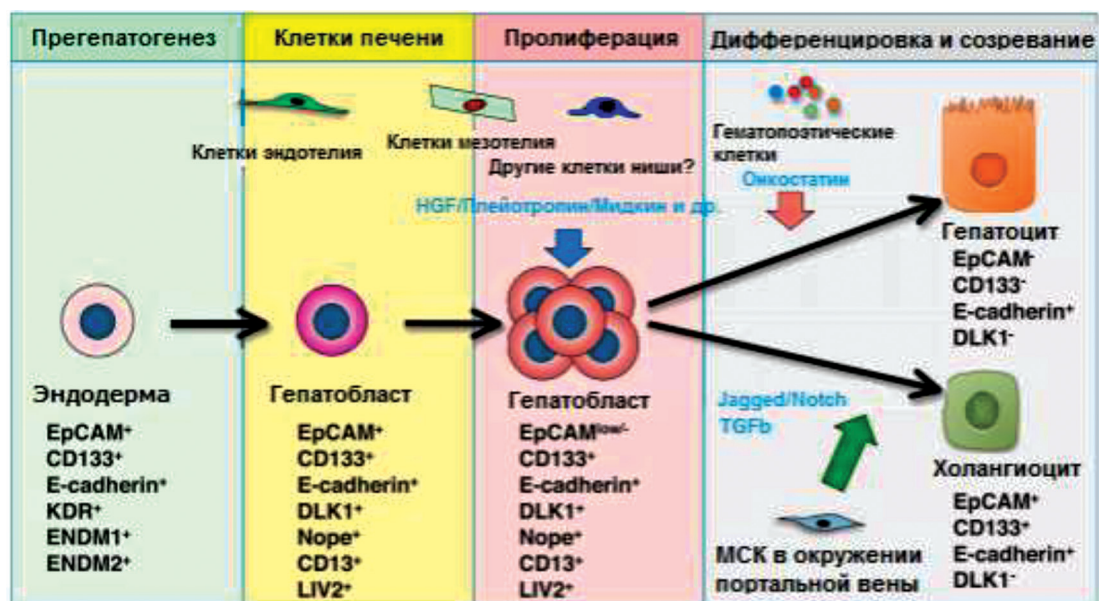


Рис. 5. Схема превращения прогениторных клеток печени в функционально активные клетки – гепатоциты и холангиоциты [26]. В каждом столбце приведен перечень транскрипционных факторов и регуляторных белков, контролирующих процесс превращения

Fig. 5. Scheme of the transformation of liver progenitor cells into functionally active hepatocyte cells and cholangiocytes [26]. Each column contains a list of transcription factors and regulatory proteins that control the conversion process

двух ключевых клеточных популяций печени – гепатоцитов и холангиоцитов) в них имеются. Это гепатоцитобласты – непосредственные предшественники двух описанных выше типов клеток. Как уже упоминалось, в роли стволовых клеток печени могут выступать овальные клетки, находящиеся в ее ткани и в тканях, окружающих желчные протоки. Они могут дифференцироваться сначала в гепатоцитобласты, а затем в гепатоциты и холангиоциты. Однако выделить их и, следовательно, культивировать *in vitro* до сих пор не удалось. Нет никакой информации о маркерных характеристиках этих клеток. В то же время приятной неожиданностью оказалась возможность экспериментально подвергнуть гепатогенной трансдифференцировке МСК из разных источников, которые обычно дифференцируются по трем каноническим направлениям: адипогенному, остеогенному и хондрогенному. Данные трансдифференцировки запускаются различными ростовыми факторами и другими еще слабо изученными эпигенетическими механизмами контроля гепатогенной трансдифференцировки, знание которых позволило бы активизировать этот процесс, сократить время превращения, повысить выход клеточного материала. Эта проблема требует специально изучения, и одним из подходов может быть тщательный анализ эпигенетических процессов в разных типах клеток (например, в стволовых и дифференцированных), который позволит выявить ключевые признаки плюрипотентности, т. е. установить сложные механизмы, определяющие клеточную «судьбу» в ходе развития, а следовательно, увеличить продолжительность жизни клетки. Предполагается, что эта информация может быть использована для перенастройки некоторых эпигенетических реакций организма, связанных в том числе со старением и различными заболеваниями, включая рак.

Заключение. Эпигенетические регуляторные механизмы метилирования ДНК, структурная модификация гистонов и микроРНК принимают активное участие в процессах репрограммирования, поддержания стволовости и направленной дифференцировки МСК. Эпигенетические механизмы функционируют на всех этапах жизнедеятельности организма, начиная от начальной стадии эмбрионального развития – деления клеток в бластоцисте, через коммитирование стволовых клеток в различные клеточные типы, и заканчивая определением их топографического распределения в тканях и органах. Кроме того, эти механизмы используются в таких основных клеточных процессах, как регуляция транскрипции, репликация ДНК, клеточный цикл и репара-

ция ДНК. Нарушение этих регуляторных процессов может стать причиной серьезных генетических патологий, включая дегенеративные заболевания органов и тканей. Например, «выпадение» ферментов, ответственных за деацетиляцию, связывают с летальностью эмбрионов, что подтверждает ключевую роль этих ферментов в эмбриональном развитии. Расшифровка роли метилирования и ацетилирования в контексте эпигенетической модификации дает возможность понять, каким образом могут повреждаться и репарироваться развивающиеся и сформированные органы. Вместе с тем понимание механизмов дифференцировки стволовых клеток и эпигенетического контроля этого процесса открывает перспективу разработки конкретных приемов увеличения дифференцированности стволовых клеток *in vitro*, что представляется чрезвычайно важным при лечении различных заболеваний.

Список использованных источников

1. Epigenetics / ed. : O. D. Allis [et al.]. – 2nd ed. – New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015. – 984 p.
2. Hoffmann, A. Molecular epigenetic switches in neurodevelopment in health and disease / A. Hoffmann, Ch. A. Zimmermann, D. Spengler // *Front Behav. Neurosci.* – 2015. – Vol. 9. – Art. 120. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00120>
3. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici [et al.] // *Cytotherapy.* – 2006. – Vol. 8, N 4. – P. 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
4. Progress in mesenchymal stem cell-based therapy for acute liver failure / Y.-H. Wang [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 227. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0972-4>
5. Li, X. Epigenetic regulation of mammalian stem cells / X. Li, X. Zhao // *Stem Cells Dev.* – 2008. – Vol. 17, N 6. – P. 1043–1052. <https://doi.org/10.1089/scd.2008.0036>
6. Epigenetic modulation of stem cells in neurodevelopment: the role of methylation and acetylation / M. Podobinska [et al.] // *Front Cell Neurosci.* – 2017. – Vol. 11, N 23. – Art. 23. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00023>
7. Epigenetic regulation of mesenchymal stem cells: a focus on osteogenic and adipogenic differentiation / C. M. Teven [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2011. – Vol. 2011. – Art. ID 201231. <https://doi.org/10.4061/2011/201371>
8. The molecular hallmarks of epigenetic control / C. D. Allis, T. Jenuwein // *Nat. Rev. Genetics.* – 2016. – Vol. 17, N 8. – P. 487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
9. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain / J. U. Guo [et al.] // *Cell.* – 2011. – Vol. 145, N 3. – P. 423–434. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.03.022>
10. Moran-Salvador, E. Epigenetics and liver fibrosis / E. Moran-Salvador, J. Mann // *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.* – 2017. – Vol. 4, N 1. – P. 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.04.007>
11. Saganuma, T. Signals and combinatorial functions of histone modifications / T. Saganuma, J. L. Workman // *Annu. Rev. Biochem.* – 2011. – Vol. 80, N 1. – P. 473–499. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061809-175347>
12. Rothbart, S. B. Interpreting the language of histone and DNA modifications / S. B. Rothbart, B. D. Strahl // *Biochim. Biophys. Acta. Gene Reg. Mech.* – 2014. – Vol. 1839, N 8. – P. 627–643. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.03.001>
13. Jenuwein, T. Translating the histone code / T. Jenuwein, O. D. Allis // *Science.* – 2001. – Vol. 293, N 5532. – P. 1074–1080. <https://doi.org/10.1126/science.1063127>
14. Goldberg, A. D. Epigenetics: a landscape takes shape / A. D. Goldberg, C. D. Allis, E. Bernstein // *Cell.* – 2007. – Vol. 128, N 4. – P. 635–638. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.006>
15. WERAM: a database of writers, erasers and readers of histone acetylation and methylation in eukaryotes / Y. Xu [et al.] // *Nucl. Acids Res.* – 2017. – Vol. 45, N D1. – P. D264–D270. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1011>
16. New, M. HDAC inhibitor-based therapies: can we interpret the code? / M. New, H. Olzscha, N. B. La Thangue // *Mol. Oncol.* – 2012. – Vol. 6, N 6. – P. 637–656. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.09.003>
17. Moutinho C. MicroRNAs and epigenetics / C. Moutinho, M. Esteller // *Advances in Cancer Research* / ed. : C. M. Croce, P. B. Fishle. – London, 2017. – Vol. 135 : miRNA and Cancer. – P. 189–220.
18. MicroRNA-204 regulates Runx2 protein expression and mesenchymal progenitor cell differentiation / J. Huang [et al.] // *Stem Cells.* – 2010. – Vol. 28, N 2. – P. 357–364. <https://doi.org/10.1002/stem.288>
19. Dykes, I. M. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation by long non-coding RNA / I. M. Dykes, C. Emanuelli // *Genomics Proteomics Bioinformatics.* – 2017. – Vol. 15, N 3. – P. 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.12.005>
20. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? / Q. Chen [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2016. – Vol. 23, N 7. – P. 1128–1139. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.168>
21. Non-coding RNA / J. S. Mattick [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2006. – Vol. 15, suppl. 1. – P. R17–R29. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl046>
22. Osteoporosis and the replacement of cell populations of the marrow by adipose tissue. A quantitative study of 84 iliac bone biopsies / P. Meunier [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 1971. – Vol. 80. – P. 147–154. <https://doi.org/10.1097/00003086-197110000-00021>
23. Stem cells transplantation in the treatment of patients with liver failure / Y.-C. Tao [et al.] // *Curr. Stem Cell Res. Ther.* – 2018. – Vol. 13, N 3. – P. 193–201. <https://doi.org/10.2174/1574888X13666180105123915>
24. Miyajima, A. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming / A. Miyajima, M. Tanaka, T. Itoh // *Cell Stem Cell.* – 2014. – Vol. 14, N 5. – P. 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>

25. Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms / M. Tanaka [et al.] // *J. Biochem.* – 2011. – Vol. 149, N 3. – P. 231–239. <https://doi.org/10.1093/jb/mvr001>
26. *In vivo* hepatic differentiation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood after transplantation into mice with liver injury / J. Yu [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2012. – Vol. 422, N 4. – P. 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.04.156>

References

- Allis O. D., Caparras M., Jenuwein T., Reinberg D. (ed.). *Epigenetics*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015. 984 p.
- Hoffmann A., Zimmermann C. A., Spengler D. Molecular epigenetic switches in neurodevelopment in health and disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 2015, vol. 9, art. 120. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00120>
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D. S., Deans R. J., Keating A., Prockop D. J., Horwitz E. M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, vol. 8, no. 4, pp. 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- Wang Y.-H., Wu D.-B., Chen B., Chen E.-Q., Tang H. Progress in mesenchymal stem cell-based therapy for acute liver failure. *Stem Cell Research and Therapy*, 2018, vol. 9, no. 1, art. 227. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0972-4>
- Li X., Zhao X. Epigenetic regulation of mammalian stem cells. *Stem Cells and Development*, 2008, vol. 17, no. 6, pp. 1043–1052. <https://doi.org/10.1089/scd.2008.0036>
- Podobinska M., Szablowska-Gadomska I., Augustyniak J., Sandvig I., Sandvig A., Buzanska, L. Epigenetic modulation of stem cells in neurodevelopment: the role of methylation and acetylation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2017, vol. 14, art. 23. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00023>
- Teven C. M., Liu X., Hu N., Tang N., Kim S. H., Huang E. [et al.]. Epigenetic regulation of mesenchymal stem cells: a focus on osteogenic and adipogenic differentiation. *Stem Cells International*, 2011, vol. 2011, art. ID 201231. <https://doi.org/10.4061/2011/201371>
- Alles C. D., Jenuwein T. The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews Genetics*, 2016, vol. 17, no. 8, pp. 487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
- Guo J. U., Su Y., Zhong C., Ming G., Song H. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell*, 2011, vol. 145, no. 3, pp. 423–434. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.03.022>
- Moran-Salvador E., Mann J. Epigenetics and liver fibrosis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2017, vol. 4, no. 1, pp. 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.04.007>
- Suganuma T., Workman J. L. Signals and combinatorial functions of histone modifications. *Annual Review of Biochemistry*, 2011, vol. 80, no. 1, pp. 473–499. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061809-175347>
- Rothbart S. B., Strahl B. D. Interpreting the language of histone and DNA modifications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanism*, 2014, vol. 1839, no. 8, pp. 627–643. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.03.001>
- Jenuwein T., Allis O. D. Translating the histone code. *Science*, 2001, vol. 293, no. 5532, pp. 1074–1080. <https://doi.org/10.1126/science.1063127>
- Goldberg A. D., Allis C. D., Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 2007, vol. 128, no. 4, pp. 635–638. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.006>
- Xu Y., Zhang S., Lin S., Guo Y., Deng W., Zhang Y., Xue Y. WERAM: a database of writers, erasers and readers of histone acetylation and methylation in eukaryotes. *Nucleic Acids Research*, 2016, vol. 45, no. D1, pp. D264–D270. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1011>
- New M., Olzscha H., La Thangue N. B. HDAC inhibitor-based therapies: Can we interpret the code? *Molecular Oncology*, 2012, vol. 6, no. 6, pp. 637–656. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.09.003>
- Moutinho C., Esteller M. MicroRNAs and epigenetics. *Advances in Cancer Research. Vol. 135. miRNA and Cancer*. London, 2017, pp. 189–220.
- Huang J., Zhao L., Xing L., Chen D. MicroRNA-204 regulates Runx2 protein expression and mesenchymal progenitor cell differentiation. *Stem Cells*, 2009, vol. 28, no. 2, pp. 357–364. <https://doi.org/10.1002/stem.288>
- Dykes I. M., Emanuelli C. Transcriptional and post-transcriptional gene regulation by long non-coding RNA. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.12.005>
- Chen Q., Shou P., Zheng C., Jiang M., Cao G., Yang Q., Shi, Y. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? *Cell Death and Differentiation*, 2016, vol. 23, no. 7, pp. 1128–1139. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.168>
- Mattick J. S., Makunin I. V. Non-coding RNA. *Human Molecular Genetics*, 2006, vol. 15, suppl. 1, pp. R17–R29. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl046>
- Meunier P., Aaron J., Edouard C., Vignon G. Osteoporosis and the replacement of cell populations of the marrow by adipose tissue. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1971, vol. 80, pp. 147–154. <https://doi.org/10.1097/00003086-197110000-00021>
- Tao Y.-C., Wang M.-L., Chen E.-Q., Tang H. Stem cells transplantation in the treatment of patients with liver failure. *Current Stem Cell Research and Therapy*, 2018, vol. 13, no. 3, pp. 193–201. <https://doi.org/10.2174/1574888X13666180105123915>
- Miyajima A., Tanaka M., Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2014, vol. 14, no. 5, pp. 561–574. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.04.010>

25. Tanaka M., Itoh T., Tanimizu N., Miyajima A. Liver stem/progenitor cells: their characteristics and regulatory mechanisms. *Journal of Biochemistry*, 2011, vol. 149, no. 3, pp. 231–239. <https://doi.org/10.1093/jb/mvr001>

26. Yu J., Cao H., Yang J., Pan Q., Ma J., Li J., Li Y., Li J., Wang Y., Li L. *In vivo* hepatic differentiation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood after transplantation into mice with liver injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, vol. 422, no. 4, pp. 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.04.156>

Информация об авторах

Волотовский Игорь Дмитриевич – академик, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volotovskiy@yahoo.com

Ермоленко Дарья Андреевна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ermolenko_darya94@gmail.ru

Горохова Надежда Игоревна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nadezhdanilina@gmail.com

Information about the authors

Igor D. Volotovskiy – Academician, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volotovskiy@yahoo.com

Darya A. Ermolenko – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ermolenko_darya94@gmail.ru

Nadezhda I. Harokhava – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nadezhdanilina@mail.com

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ
SCIENTISTS OF BELARUS

ИГОРЬ ДМИТРИЕВИЧ ВОЛОТОВСКИЙ

(К 80-летию со дня рождения)



25 октября 2019 г. исполнилось 80 лет со дня рождения и 55 лет научной, научно-организационной и педагогической деятельности выдающегося ученого в области фотобиологии, биофизики, клеточной биологии и биотехнологии, почетного директора Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, заведующего лабораторией молекулярной биологии клетки, доктора биологических наук, профессора, лауреата Государственной премии Республики Беларусь в области науки, заслуженного деятеля науки Республики Беларусь, академика Игоря Дмитриевича Волотовского.

Родился Игорь Дмитриевич в г. Минске в семье служащих. В 1956 г. И. Д. Волотовский окончил среднюю школу № 2 г. Минска и поступил в Минский государственный медицинский институт, который успешно окончил в 1962 г. По распределению он был на-

правлен на работу в сельскую местность и 2 года работал заведующим сельской участковой больницей в д. Жукойни Островецкого района Гродненской области.

Увлеченность наукой у И. Д. Волотовского зародилась в годы учебы в институте на занятиях в студенческом научном кружке – это были первые шаги будущего академика в науку. Поступив в 1964 г. в аспирантуру по специальности «биофизика», работал в лаборатории биофизики и изотопов АН БССР (с 1973 г. – Институт фотобиологии АН БССР). К концу обучения в аспирантуре под руководством С. В. Конева выполнил в современной и новаторской для того времени области исследований – молекулярной биофизике – кандидатскую диссертацию на тему «Исследование первичных фотофизических процессов в триптофане белков», которую успешно защитил в 1968 г. В 1980 г. он защитил докторскую диссертацию «Фотоника и структурное состояние белков и биологических мембран». В 1971 г. И. Д. Волотовский получил звание старшего научного сотрудника, в 1990 г. – профессора. Избран член-корреспондентом в 1986 г., академиком НАН Беларуси – в 1994 г.

С 1967 г. научная жизнь И. Д. Волотовского неразрывно связана с Институтом фотобиологии, где он работал старшим инженером-технологом, младшим и старшим научным сотрудником, заведующим лабораторией, заместителем директора по научной работе. Более четверти века (1985–2010) он был директором Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (до 2004 г. – Институт фотобиологии НАН Беларуси). Именно здесь масштабно раскрылся талант ученого, руководителя и организатора науки. Деятельность И. Д. Волотовского на посту директора Института была исключительно плодотворной. Руководимый им институт стал на постсоветском пространстве ведущим научным центром в области фотобиологии и биофизики.

Академик И. Д. Волотовский всегда был верен сложившимся в Институте научным традициям, связанным с именами академика АН БССР Т. Н. Годнева, члена-корреспондента АН СССР А. А. Шлыка, академика НАН Беларуси С. В. Конева, являлся их преемником и продолжателем. И. Д. Волотовский бережно передает идеи научных традиций молодому поколению ученых Института, из которых выросло немало молодых талантливых ученых и руководителей.

В начале деятельности научные интересы И. Д. Волотовского были связаны с изучением закономерностей биологического действия света на уровне мембранных структур животных и рас-

тительных клеток. Это были основополагающие работы в области люминесценции и фотофизики белков в растворе и в составе биологических мембран, указывающие на тесную связь между фотоникой и структурным состоянием белков. Совместно со своим учителем С. В. Коневым И. Д. Волотовским на молекулярном и мембранном уровне были рассмотрены важнейшие закономерности взаимодействия света с веществом, приведена классификация фотобиологических реакций, что отражено в монографиях «Фотобиология» и «Введение в молекулярную фотобиологию». За цикл работ «Люминесценция белков и ее применение в научных исследованиях и практике» И. Д. Волотовский в составе авторского коллектива удостоен в 1992 г. Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники.

И. Д. Волотовским совместно с С. В. Коневым впервые были исследованы и систематизированы узловыe вопросы фотобиологии, а именно высшая форма информационно-регуляторных фотобиологических реакций – зрительная рецепция. Установлена определяющая роль структурного состояния мембранных систем клеток сетчатки глаза в передаче фотохимического сигнала и возникновении в конечном итоге зрительного образа, что имело огромное значение не только для фундаментальной науки, но и для практической медицины. Новые данные о молекулярно-мембранных механизмах зрительной рецепции обобщены в монографиях «Структурная динамика фоторецепторного аппарата» (1986) и «Транспорт ионов в фоторецепторной клетке» (1990).

Под руководством И. Д. Волотовского создана и развивается научная школа по приоритетному направлению в биофизике – биофизика сигнальных процессов в клеточных системах растительного и животного происхождения, их связь с динамикой и активностью клеточных популяций на примере стволовых клеток животных и человека.

Сфера научных исследований представителей школы сосредоточена на проблеме фитохром-зависимых регуляторных процессов в растении и использовании генно-инженерных подходов для анализа структуры и функции фитохрома и фотосинтетического аппарата. И. Д. Волотовским и его учениками детально изучены промежуточные стадии фототрансформации фитохрома, особенности структуры его форм, установлена роль фитохрома как фоторегулятора транспорта ионов кальция и зарегистрированы кальциевые осцилляции в растительной клетке (способ кодирования информации в процессах трансдукции внутриклеточных сигналов), разработаны методики и получены трансгенные растения с подавленным синтезом фитохрома в клетке на основе антисмысловой РНК. В 1992 г. опубликована монография И. Д. Волотовского «Фитохром – регуляторный фоторецептор растений», которая высоко оценена научной общественностью. Результаты исследований по таким направлениям, как фитохромная регуляция и зрительная рецепция, приобрели мировую известность.

В последние годы работы научной школы сконцентрированы на изучении биофизики мезенхимальных стволовых клеток, механизмах их дифференцировки в специализированные клетки органов и тканей, регуляции их функционирования *in vivo* и разработке на их основе клеточных технологий для лечения заболеваний человека.

И. Д. Волотовский был инициатором проведения в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси научных исследований в области геномики и протеомики. Им разработаны универсальные схемы трансформации в клетке слабых физических и химических сигналов в биологический эффект, реализующиеся с участием ионов кальция и циклических мононуклеотидов. Современные научные представления о процессах внутриклеточной сигнализации в растениях и предложенная И. Д. Волотовским с сотрудниками концепция о гуанозин-цикломононуклеотиде как ключевом элементе кросстока между световыми, фитогормональными и стрессовыми сигналами каскадами в растении нашли отражение в монографии «Циклический гуанозинмонофосфат и сигнальные системы клеток растений» (2014).

Будучи опытным организатором науки в Республике Беларусь, И. Д. Волотовский постоянно интересуется современными мировыми тенденциями в развитии биологических наук, придавая особое значение биотехнологиям. На основе анализа уровня научных исследований в области биотехнологий в мире и в Беларуси он пришел к выводу, что для обеспечения быстрых темпов роста биотехнологического сектора экономики страны и его устойчивого развития необходимо проведение проводимых научных исследований в соответствии с современными мировыми тенденциями.

При активном участии И. Д. Волотовского осуществлена большая научно-организационная работа по формированию и успешному выполнению государственных программ различного уровня: ГПФИ «Функционирование биосистем» (2003–2005), ГПОФИ «Современные науки о жизни» (2003–2005), ГППИ «Биоанализ и диагностика» (2003–2005), ГП «Генетическая инженерия» (2002–2006), ГКПНИ «Биологическая инженерия и биобезопасность» (2006–2010), ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологий (2011–2015).

Под руководством И. Д. Волотовского разработана и реализована Государственная программа «Инновационные биотехнологии на 2010–2012 гг. и на период до 2015 г.». Программа была направлена на совершенствование системы сельскохозяйственного растениеводства и животноводства на основе инновационных биотехнологий; создание и внедрение новых биотехнологий, повышающих качество продукции пищевой промышленности и обеспечение ее импортозамещения; разработку технологий получения биотоплива; разработку эффективных отечественных средств диагностики, лечения и профилактики заболеваний человека на основе биотехнологических приемов; модернизацию существующих и создание новых биотехнологических производств.

В настоящее время И. Д. Волотовский является научным руководителем Государственной программы научных исследований «Биотехнологии» на 2016–2020 гг. и подпрограммы «Молекулярные и клеточные биотехнологии», создающей основу для разработки новых препаратов медицинского, ветеринарного, сельскохозяйственного, пищевого, энергетического назначения; перспективных форм и линий растений и животных (в плане высоких устойчивости, продуктивности и качества ценных генотипов) методами клеточной инженерии. Под руководством И. Д. Волотовского также сформирован и выполняется раздел «Молекулярные и клеточные биотехнологии» подпрограммы «Инновационные биотехнологии-2020» Государственной программы «Научно-технологические технологии и техника» на 2016–2020 гг.

Все программы, которыми руководит И. Д. Волотовский, обеспечивают решение важнейших задач, стоящих перед страной на современном этапе ее развития.

В последнее десятилетие под непосредственным руководством И. Д. Волотовского проведены фундаментальные исследования в области биологии стволовых клеток. По его инициативе в институте организовано наукоемкое, высокотехнологичное и конкурентоспособное производство биомедицинских клеточных продуктов, соответствующее стандартам GMP. В 2014 г. с целью решения задач, поставленных Главой государства перед учеными по превращению НАН Беларуси в крупнейшую научно-производственную корпорацию, повышения эффективности использования в медицинской практике последних достижений в области клеточной биологии, ускорения освоения в практике научных разработок, повышения экспортного потенциала науки, в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси был открыт Республиканский научно-медицинский центр «Клеточные технологии», научным руководителем которого является И. Д. Волотовский. В настоящее время в институте разрабатываются и внедряются в клиническую практику новые биомедицинские клеточные продукты для лечения заболеваний и восстановления тканей и органов в хирургии, стоматологии, онкологии, офтальмологии, комбустиологии, урологии, травматологии и косметологии.

Академик И. Д. Волотовский, обладая уникальной научной интуицией и нестандартностью мышления, смог заметить и развить новые перспективные направления исследований для страны. В свое время им был сформирован научный коллектив из ведущих российских и белорусских ученых в области биологии и медицины, совместными усилиями которого разработана и успешно выполнена программа Союзного государства «Разработка новых методов и технологий восстановительной терапии патологически измененных тканей и органов с использованием стволовых клеток» («Стволовые клетки», 2011–2013). В результате выполнения программы в Российской Федерации и Республике Беларусь создана научная и организационная основа для разработки технологий трансплантации стволовых клеток в экспериментальных моделях, разработки схем их возможного применения при широком спектре патологий органов и систем и обеспечения резервного объема стволовых клеток путем создания соответствующего клеточного банка. В развитие предыдущего цикла программ Союзного государства И. Д. Волотовский принимает активное участие с белорусской стороны в разработке и согласовании концепции программы Союзного

государства «Стволовые клетки-2», направленной на создание новых биомедицинских клеточных продуктов, клеточных линий на основе методов редактирования генома.

Почти 20 лет деятельность Игоря Дмитриевича была тесно связана с Национальной академией наук Беларуси. С 1997 по 2000 г. И. Д. Волотовский – вице-президент НАН Беларуси, в 2000 г. – исполняющий обязанности Президента НАН Беларуси, с 2002 по 2014 г. – академик-секретарь Отделения биологических наук НАН Беларуси. На посту академика-секретаря Отделения биологических наук НАН Беларуси И. Д. Волотовский внес неоценимый вклад в развитие биологической науки в Республике Беларусь.

В последние годы по инициативе И. Д. Волотовского в институте начаты исследования по самым современным, «топовым» направлениям в клеточной биологии, таким как получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и редактирование генома с использованием системы CRISPR/Cas9. Эти исследования, направленные на решение стоящих перед генной терапией наследственных заболеваний человека задач, позволят понять, что происходит в процессе эмбрионального развития с геномом и протеомом человеческого организма, и послужат мощным толчком к развитию новых исследований, цель которых – изменение структуры и функционирования генетического аппарата клетки.

На протяжении более 30 лет И. Д. Волотовский ведет активную педагогическую работу в Белорусском государственном университете, уделяя большое внимание формированию профессионального научного сообщества в стране. Его курсы лекций по фотобиологии, фотобиоинженерии, фотонике нанобиоструктур и генетической инженерии увлекают студентов и способствуют приходу в науку молодежи. Для интеграции студенческой молодежи в научный процесс по инициативе И. Д. Волотовского при институте был создан филиал кафедры биофизики физического факультета Белгосуниверситета – кафедра биофизики и клеточной биологии.

Игорь Дмитриевич беззаветно предан науке. Его высокий профессионализм заслуженно оценен мировым научным сообществом. И. Д. Волотовский – энергичный, чрезвычайно эрудированный и дальновидный талантливый ученый с широким кругозором, обладающий глубокими знаниями не только в области биофизики, молекулярной и клеточной биологии, клеточной и тканевой инженерии, но и в смежных дисциплинах. В трудное для науки время после распада СССР он заботился не только о сохранении и развитии созданных ранее в Институте фотобиологии научных школ по фотосинтезу и биофизике, но и о сохранении высокого уровня научных исследований. Передавая молодым талантливым ученым опыт и знания, он обеспечивал тем самым преемственность поколений в науке.

И. Д. Волотовский бережно поддерживает и сохраняет традиции в науке. Под его постоянным руководством в Институте проводятся ежегодные Годневские чтения, международные научные конференции, на которых выступают ведущие зарубежные и отечественные ученые. По его инициативе в 2000, 2003 и 2007 гг. состоялись I, II и III Белорусско-немецкие симпозиумы по фотосинтезу. Начиная с 1994 г. под руководством И. Д. Волотовского, который является председателем Белорусского общества фотобиологов и биофизиков, регулярно совместно с БГУ проводится Международная научная конференция «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» – масштабный научный форум с широкой географией участников.

Большое внимание И. Д. Волотовский уделяет международному сотрудничеству. Он неоднократно достойно представлял белорусскую науку на различных международных форумах, что способствовало установлению прочных научных контактов между учеными НАН Беларуси и зарубежными научными коллективами и повышению статуса белорусской науки в мире. И. Д. Волотовский являлся членом Совета ученых ИНТАС, а в 2002 г. был избран заместителем председателя этого совета. С 2004 г. он является руководителем сателлитного центра Института микроанализа ЮНЕСКО, а с 2007 г. – руководителем национальной контактной точки по 7-й Рамочной программе Евросоюза по направлению «Здоровье, демографические изменения и благополучие населения».

Академик И. Д. Волотовский – автор более 600 научных работ и патентов на изобретения, в том числе 5 монографий, учебного пособия «Фотобиология» (два издания), которое стало настольной книгой студентов-биофизиков Беларуси и стран ближнего зарубежья. Он подготовил 19 кандидатов наук и является руководителем 4 аспирантов.

И. Д. Волотовский – председатель Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, действительный член Европейской академии наук и искусств, действительный член Международной славянской академии, член Американского биофизического общества, входит в состав редакционных коллегий и советов журналов «Доклады НАН Беларуси», «Весці НАН Беларусі. Серыя біялагічных навук», «Наука и инновации», журналов Российской академии наук «Биофизика» и «Физиология растений». И. Д. Волотовский более 10 лет являлся членом Президиума Высшего аттестационного комитета Республики Беларусь.

Научные достижения И. Д. Волотовского получили широкое признание научной общественности как в Беларуси, так и далеко за ее пределами. За выдающиеся достижения он награжден медалью «За доблестный труд. В ознаменование 100-летия со дня рождения В. И. Ленина» (1970), «За трудовую доблесть» (1981). И. Д. Волотовский является заслуженным деятелем науки Республики Беларусь (1999 г.), лауреатом премии Президентов академий наук Беларуси, Украины и Молдовы (2002 г.). Он избран почетным доктором Национальной академии наук Украины (2009) и Белорусского государственного медицинского университета (2010). И. Д. Волотовский отмечен высокими правительственными наградами: орденом Почета (2009) и Почетной грамотой Совета Министров Республики Беларусь (2014). Он неоднократно был награжден почетными грамотами НАН Беларуси (2004, 2009, 2014), Благодарностью Председателя Президиума НАН Беларуси (2010) и Почетной грамотой ВАК Республики Беларусь (2009, 2014) и др. В 2014 г. академик И. Д. Волотовский был награжден Золотой медалью НАН Беларуси.

Академик И. Д. Волотовский – знаковая фигура для всей биологической и медицинской науки Республики Беларусь. Обладая несомненными лидерскими качествами, он последовательно и целеустремленно добивается поставленной цели, отделяя главное от второстепенного. Ему присуще умение мыслить масштабно, сочетая преимущества накопленного опыта с оригинальными, новаторскими идеями.

Коллеги и ученики сердечно поздравляют юбиляра и искренне желают ему крепкого здоровья и новых научных достижений на благо биологической науки и Отечества.

*М. Е. Никифоров, Л. В. Хотылева, А. Г. Лобанок, В. И. Парфенов,
Н. А. Ламан, В. Н. Решетников, С. Н. Черенкевич, Е. И. Слобожанина,
А. Е. Гончаров, Л. Ф. Кабашникова, Л. М. Лукьяненко, Е. В. Князева*

**ПАМЯТИ ЧЛЕНА-КОРРЕСПОНДЕНТА МАРИИ ТИХОНОВНЫ ЧАЙКА
(К 90-летию со дня рождения)**



31 декабря 2019 г. исполнилось 90 лет со дня рождения члена-корреспондента НАН Беларуси Марии Тихоновны Чайка. М. Т. Чайка родилась в г. Горки Могилевской области в семье Тихона Николаевича Годнева – профессора Горецкой сельскохозяйственной академии. В 1946 г. она поступила на биологический факультет Белорусского государственного университета, где получила глубокие знания в области физиологии растений, включая проблемы фотосинтеза. Окончив университет с отличием, Мария Тихоновна продолжила учебу в Москве в аспирантуре Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева под руководством профессора А. А. Прокофьева. В 1955 г. она защитила кандидатскую диссертацию на тему «Исследование влияния газового и светового режима на накопление жира в семенах мака масличного».

Свою научную деятельность М. Т. Чайка начала в 1955 г. в Институте биологии АН БССР (в настоящее время Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси), где до 1965 г. в лаборатории биохимии растений под руководством академика А. С. Вечера занималась изучением биогенеза нелистовых пластид.

С 1967 г. Мария Тихоновна связала свою дальнейшую жизненную и творческую судьбу с Институтом фотобиологии НАН Беларуси (в настоящее время Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси). В 1970-е годы исследования М. Т. Чайка были посвящены выяснению функциональной активности пластид и изучению биогенеза фотосинтетических мембран хлоропластов. Благодаря инициативе М. Т. Чайка в работах по биосинтезу белковых компонентов пигментного аппарата растений в институте начали успешно применяться иммунохимические методы. Сочетание традиционных приемов изучения биосинтеза пигментов с возможностями анализа структуры и функций белковых компонентов фотосинтетического аппарата позволило получить большой массив оригинальных научных результатов, которые легли в основу докторской диссертации М. Т. Чайка на тему «Исследование биосинтеза хлорофилла и биогенеза пигмент-белковых комплексов пластидных мембран», успешно защищенной в 1978 г.

В 1981 г. по инициативе члена-корреспондента АН СССР А. А. Шлыка в институте была создана новая лаборатория физиологии фотосинтетического аппарата, которую возглавила доктор биологических наук, профессор М. Т. Чайка. Главным научным направлением новой лаборатории являлось изучение физиологических основ формирования фотосинтетического аппарата и его взаимосвязей с высокой продуктивностью и устойчивостью растений хлебных злаков.

Успешному развитию данного научного направления способствовали выполненные ранее фундаментальные исследования биогенеза мембранной системы фотосинтетического аппарата при переходе растений от гетеротрофного к автотрофному существованию.

Под руководством М. Т. Чайка сотрудниками лаборатории было установлено, что ранние этапы биогенеза фотосинтетических мембран в зеленеющих проростках ячменя осуществляются главным образом на базе белков этиопластов. Были получены доказательства возможности синтеза апобелков реакционного центра фотосистемы 1 (РЦ ФС 1) и светособирающего комплекса фотосистемы 2 (ССК-2) в отсутствие хлорофилла. Обнаружена несинхронность в накоплении хлорофилловых пигментов и апобелков РЦ ФС 1 и ССК-2 в ответ на активирование фитохромной системы в зеленеющих проростках, что указывало на разные механизмы фоторегуляции пигментного и белкового состава этих комплексов. Впервые было установлено, что координация

сборки комплекса ССК-2 регулируется на посттрансляционном уровне непосредственно в месте его локализации в мембране. Впервые было также доказано участие в синтезе хлорофилла в зеленых листьях протохлорофиллид-оксидоредуктазы (ПОР), идентичной ферменту, присутствующему в этиопластах. ПОР была обнаружена в различных внутривнутрихлоропластных компартментах зеленых листьев, включая фотосинтетические мембраны и пластидную оболочку, и не являлась интегральным компонентом пигмент-белковых комплексов. Было установлено, что стадия включения ПОР в систему биосинтеза хлорофилла является определяющей в регуляции процесса его синтеза при переходе от темноты к свету.

По инициативе М. Т. Чайка в лаборатории были начаты исследования биогенеза фотосинтетических мембран в разных фотосинтезирующих органах растений, получены новые данные об органоспецифических особенностях регуляции пластидогенеза и установлена иерархия основных регуляторных процессов. Было обнаружено, что в колеоптилях злаков главное управляющее звено действует на уровне тканеспецифического ингибирования пластидогенеза через снижение количества хлорофиллоносной ткани, затем следует регуляция на мезоструктурном уровне через снижение числа пластид в хлорофиллоносной клетке при отсутствии корреляции между изменением объема клетки и числом хлоропластов в ней. Полученные результаты нашли отражение в работе М. Т. Чайка, Г. Е. Савченко «Биосинтез хлорофилла в процессе развития пластид» (1981) и в коллективной монографии Н. Г. Авериной, А. Б. Рудого, Г. Е. Савченко, Л. И. Фрадкина, М. Т. Чайка и др. «Биогенез пигментного аппарата фотосинтеза» (1988).

Результаты изучения основных компонентов системы биосинтеза хлорофилла, их пространственной локализации и регуляторных аспектов биогенеза фотосинтетических мембран хлоропластов послужили основой для исследований фотосинтетической функции на уровне клетки, целого растения и посева. Основная задача данных исследований состояла в выяснении корреляционных взаимосвязей фотосинтетической деятельности злаковых растений с продуктивностью и возможности использования фотосинтетических показателей в селекции.

В 1982 г. совместно с коллегами из Белорусского научно-исследовательского института земледелия Госагропрома БССР (ныне РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию») были выполнены исследования фотосинтетического аппарата у растений ряда сортов ярового ячменя, отражающего ход сортосмены этой культуры в Беларуси за 30 лет (1955–1985 гг.). С применением комплексного подхода к решению такой сложной проблемы физиологии растений, как фотосинтетическая продуктивность, в условиях контрастных ценотических взаимодействий (загущенный и разреженный посевы) были выявлены разные адаптивные возможности фотосинтетического аппарата у экстенсивных и интенсивных сортов ячменя на уровне как агрофитоценоза, так и первичных фотосинтетических процессов и определен вклад фотосинтезирующих систем разной сложности (фотосинтетических мембран, листа, растения и посева) в формирование устойчивости и продуктивности растений ячменя. Обнаружены положительные корреляционные взаимосвязи между показателями морфоструктуры, содержанием фотосинтетических пигментов на разных уровнях организации фотосинтетического аппарата и зерновой продуктивностью ячменя и разработаны критерии ранней диагностики перспективных для селекции форм ярового ячменя по фотосинтетическим показателям.

С 1988 г. совместно с Институтом генетики и цитологии АН БССР и Белорусским научно-исследовательским институтом земледелия Госагропрома БССР под руководством М. Т. Чайка был выполнен цикл работ по изучению организации пигментного аппарата тритикале (искусственно полученной зерновой культуры со сложным полигеномом), в результате которого было установлено, что низкая реализация потенциала продуктивности тритикале в нашей республике связана главным образом со снижением фотосинтетической активности единицы площади листовой поверхности при заметном увеличении содержания хлорофилла в листе. Полученные результаты изложены в коллективной монографии М. Т. Чайка, В. Н. Решетникова, А. К. Романовой и др. «Фотосинтетический аппарат и селекция тритикале» (1991).

В этот же период было начато изучение характера наследования пигментных признаков у гибридов тритикале, а также корреляционных взаимодействий между пигментными показателями, ростом и зерновой продуктивностью этой новой зерновой культуры. Были обнаружены

достоверные генотипические различия по содержанию пигментов и показателям ультра- и мезоструктурной организации пигментного аппарата у форм и гибридов озимого гексаплоидного тритикале. Показана высокая генетическая изменчивость признаков «содержание хлорофилла *a*» и «соотношение хлорофилл *a*/хлорофилл *b*», что дало возможность использовать данные признаки в практической селекции.

М. Т. Чайка была инициатором комплексных исследований, направленных на выяснение характера взаимосвязи ростовых процессов и формирования фотосинтетического аппарата на ранних этапах онтогенеза. С использованием модельных объектов, у которых различия по показателям роста обусловлены генетически или вызваны воздействием экзогенных фитогормонов, были определены этапы развития проростков тритикале, когда характер данных различий проявлялся особенно четко (период появления листа из колеоптиля и стадия завершения активного накопления фотосинтетических пигментов), а также выявлены разные пути реализации фитохромных эффектов на формирование пигментного аппарата проростков тритикале при воздействии экзогенных фитогормонов – гибберелловой кислоты и эпибрассинолида.

Плодотворная и активная научная деятельность Марии Тихоновны и руководимого ею коллектива способствовала выяснению роли фотосинтетического аппарата в системе целого растительного организма, а также многих аспектов фотосинтетической деятельности растений, обеспечивающей высокую продуктивность и устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды.

М. Т. Чайка стояла у истоков разработки и внедрения в практику нового технологического приема – инкрустации семян зерновых культур с использованием многокомпонентных полимерных составов. Под ее непосредственным руководством в 1980-х годах было начато изучение физиологического действия многокомпонентных составов для предпосевной обработки семян на основе физиологически активных веществ отечественного производства. В результате многолетних исследований впервые в республике были созданы защитно-стимулирующие составы на основе экологически безопасных регуляторов роста (гуминовых, кремневых и меланоидиновых препаратов, янтарной кислоты, брассиностероидов), изучены механизмы их действия и разработаны технологические регламенты их использования. Эти технологические приемы обеспечивают стабильное получение высоких урожаев зерна, повышая устойчивость растений к неблагоприятным природным условиям, импортозамещение и снижение химической нагрузки на почву и окружающую среду.

М. Т. Чайка – автор более 120 научных работ, в том числе 3 монографий. Многие ее труды получили широкую известность среди ученых-фотосинтетиков. Она многократно выступала с докладами на ответственных научных форумах, в том числе с лекцией «Биосинтез хлорофилла и биогенез фотосинтетического аппарата», представленной в 1993 г. на 54-х ежегодных Тимирязевских чтениях в Москве в честь 150-летия со дня рождения великого ученого и изданной в 1996 г. в виде брошюры. Достоянная продолжательница научных идей своего отца, глубоко преданная науке, она постоянно придерживалась традиций белорусской школы фотосинтетиков и фотобиологов, принимала деятельное участие в организации ежегодных Годневских чтений в Минске и издании книги воспоминаний о Тихоне Николаевиче Годневе.

Мария Тихоновна проводила большую работу по подготовке научных кадров, в том числе для вузовской науки, оппонировала диссертации во многих научных центрах республики и за ее пределами. Она была талантливым педагогом, воспитавшим 8 кандидатов наук.

Заслуги М. Т. Чайка в развитии физиологии и биохимии фотосинтеза были отмечены высокими правительственными наградами – Грамотой Верховного Совета БССР (1979), медалью «Ветеран труда» (1985), медалью «За трудовую доблесть» (1989). В 1991 г. М. Т. Чайка была избрана членом-корреспондентом НАН Беларуси, а в 1992 г. ей было присвоено ученое звание профессора по специальности «физиология растений».

Важнейшими чертами научного портрета Марии Тихоновны Чайка являлись глубокая преданность науке, новаторство, умение выделять главное, широкий научный кругозор и научное предвидение. Успешной реализации новых идей и научных направлений способствовали широкие научные связи и высокая научная активность. М. Т. Чайка пользовалась всеобщей любовью и уважением среди многочисленных коллег и людей, с которыми ее сталкивала жизнь. Она много

сделала для развития исследований фотосинтеза в нашей республике, и ее ученики и коллеги активно продолжают эти интересные и важные исследования.

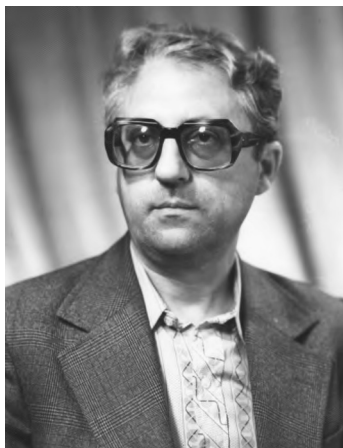
Научные идеи М. Т. Чайка получили свое дальнейшее развитие в лаборатории прикладной биофизики и биохимии (до 2004 г. лаборатория физиологии фотосинтетического аппарата), где с целью разработки новых адаптивных и диагностических технологий для сельского хозяйства под руководством Л. Ф. Кабашниковой развивается новое научное направление – стрессовая биофизика фотосинтеза растений. Успешным продолжением работ М. Т. Чайка стало изучение закономерностей процессов формирования и функционирования фотосинтетического аппарата хлебных злаков на разных уровнях системной организации и этапах онтогенеза растений при действии стрессовых факторов и выяснение роли аппарата фотосинтеза в реализации потенциала продуктивности злаковых растений в изменяющихся условиях внешней среды. Крупным научным достижением сотрудников лаборатории является разработка концепции повышения продуктивности и устойчивости растений хлебных злаков на основе оптимизации структурно-функционального состояния фотосинтетического аппарата, основные положения которой изложены в двух монографиях Л. Ф. Кабашниковой – «Фотосинтетический аппарат и потенциал продуктивности хлебных злаков» (2011) и «Фотосинтетический аппарат и стресс у растений» (2014).

Имя члена-корреспондента НАН Беларуси Марии Тихоновны Чайка, посвятившей свою жизнь изучению строения, формирования и функционирования фотосинтетического аппарата растений и внесшей значительный вклад в становление и развитие физиологии и биохимии фотосинтеза, по праву занимает почетное место в ряду известных имен белорусской школы фотосинтетиков и фотобиологов.

*И. Д. Вологовский, Е. И. Слобожанина,
Л. Ф. Кабашникова, Н. Г. Аверина*

ПАМЯТИ МИХАИЛА ВАЛЕНТИНОВИЧА ЗАЛАШКО

(К 90-летию со дня рождения)



21 октября 2019 г. исполнилось 90 лет со дня рождения известного белорусского ученого-микробиолога, доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки Республики Беларусь, лауреата Государственной премии Эстонской ССР Михаила Валентиновича Залашко.

М. В. Залашко родился в г. Грозном Чечено-Ингушской АССР. После окончания в 1953 г. Московской сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева работал во ВНИИ маслодельной и сыродельной промышленности и одновременно обучался в заочной аспирантуре. В 1961 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук. С 1965 г. работал в Институте микробиологии АН БССР в должности заведующего лабораторией. В 1972 г. ему присуждена ученая степень доктора биологических наук, в 1974 г. – ученое звание профессора.

Научные интересы М. В. Залашко охватывали широкий спектр актуальных и востребованных экономикой направлений исследований в области фундаментальной и прикладной микробиологии. Он основал отечественную научную школу физиологии дрожжевых организмов, включая биосинтез липидов, стерина, витаминов (рибофлавина, каротиноидов). Под его руководством разработаны научные основы получения различных продуктов микробного синтеза с использованием физиологической регуляции метаболизма дрожжей, созданы безотходные технологии кормовых и пищевых продуктов из такого возобновляемого сырья, как молочная сыворотка. Благодаря разработкам М. В. Залашко в 1979 г. в Эстонской ССР организовано первое в Советском Союзе производство жидкого кормового продукта «Промикс», созданы биотехнологии ряда других кормовых белково-витаминных и лечебно-профилактических продуктов – сухого заменителя цельного молока «БиоЗЦМ», «Провибел», «Провилакт». По инициативе М. В. Залашко разработана технология получения этанола высшей очистки из концентрированной молочной сыворотки с помощью специально отобранного штамма лактозосбраживающих дрожжей, организован его выпуск на Пружанском и Шумилинском маслосырзаводах.

В 1985 г. за разработку и внедрение в производство биотехнологии переработки молочной сыворотки в белково-витаминный препарат для улучшения сбалансированных кормов М. В. Залашко награжден Государственной премией Эстонской ССР. В 1990 г. за большой личный вклад в развитие микробиологической науки ему присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь».

На протяжении всей своей научной деятельности М. В. Залашко уделял большое внимание подготовке высококвалифицированных научных кадров. Под его руководством защищены 23 кандидатские диссертации. Он участвовал в организации кафедры технической микробиологии Белорусского технологического института им. С. М. Кирова (сейчас учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет»), на которой много лет читал курсы специальных дисциплин, руководил выполнением курсовых и дипломных работ.

Результаты исследований М. В. Залашко отражены в многочисленных научных публикациях, а его обстоятельные научные труды «Микробный синтез на молочной сыворотке» и «Биотехнология продуктов из молочной сыворотки» и сегодня востребованы исследователями, практиками и учащимися профильных высших учебных заведений.

М. В. Залашко – яркий пример истинного ученого и талантливого педагога с оригинальным мышлением, широкой эрудицией, незаурядными организаторскими способностями, высокой работоспособностью и целеустремленностью. Своими знаниями и идеями он всегда охотно делился с учениками и коллегами. Внимание, чуткость и стремление помочь были его основными качествами в отношениях с людьми. Память о Михаиле Валентиновиче навсегда останется в сердцах его учеников и всех, кто его знал.

А. Г. Лобанок, Э. И. Коломиец, З. М. Алещенкова, Л. В. Романова