

# ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

---

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2020. Т. 65, № 2

---

# ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

---

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2020. Т. 65, № 2

---

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, Республика 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, № 2.

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

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

Подписано в печать 07.04.2020. Выход в свет 24.04.2020. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 84 экз. Заказ 64.  
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. 2

---

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. Schwartau** – 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. 2.

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

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

Sent for press 07.04.2020. Output 24.04.2020. Format 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper.  
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 84 copies. Order 64.  
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

<b>Вязов Е. В., Каляга Т. Г., Филипчик Е. А., Сафонова О. Ю., Гриц А. Н., Карасева Е. Н., Макарова Т. Б., Ольшаникова А. Л.</b> Влияние элиситоров бактериального происхождения на функционирование защитной системы рассады картофеля ( <i>Solanum Tuberosum</i> L.), зараженной X-вирусом. . . . .	135
<b>Скуратович Т. А., Молчан О. В.</b> Содержание фенольных соединений в аборигенном и инвазивных видах рода <i>Bidens</i> , произрастающих в различных регионах Беларуси. . . . .	144
<b>Пшибытко Н. Л., Бачище Т. С., Кабашникова Л. Ф.</b> Влияние повышенной температуры на перенос электронов в хлоропластах ячменя. . . . .	153
<b>Шалыго Н. В.</b> Пигментный состав клеток микроводоросли <i>Haematococcus pluvialis</i> при культивировании на дефицитных по биогенным элементам средах. . . . .	163
<b>Бедуленко М. А., Титок В. В.</b> Влияние минеральных удобрений на компонентный состав эфирного масла монарды дудчатой ( <i>Monarda fistulosa</i> L.) . . . . .	171
<b>Алехнович А. В., Молотков Д. В., Сливинска К.</b> Современное распространение речных раков (Decapoda: Astacidae, Cambaridae) в водоемах бассейна реки Неман на территории Беларуси. . . . .	182
<b>Недведь Е. Л., Калацкая Ж. Н., Ламан Н. А., Минкова В. В., Герасимович К. М., Овчинников И. А., Копылова Н. А., Филатова И. И., Люшкевич В. А.</b> Стимулирующее действие плазменной и радиоволновой обработки семян клевера лугового на морфофизиологические параметры проростков . . . . .	191
<b>Степура И. И., Лабор С. А., Степура В. И., Янцевич А. В.</b> Фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиамин в водных растворах при воздействии ультрафиолета и видимого излучения. . . . .	199
<b>Торчик В. И.</b> Теоретические и практические аспекты интродукции декоративных форм хвойных видов в Беларуси. . . . .	212
<b>Рупасова Ж. А., Василевская Т. И., Криницкая Н. Б., Задаля В. С., Павловский Н. Б., Чижик О. В., Филипня В. Л.</b> Оценка влияния способа вегетативного размножения сортов <i>Vaccinium corymbosum</i> L. на биохимический состав плодов. . . . .	220
<b>Никитин А. Н., Шуранкова О. А., Чешик И. А., Леферд Г. А., Мищенко Е. В., Жуковская Е. В., Сухарева Д. В.</b> Экспериментальная оценка влияния режима увлажнения почвы на накопление <sup>137</sup> Cs побегами яровой пшеницы . . . . .	229
<b>Булатовский А. Б., Зипченко А. И.</b> Создание штамма – продуцента бактериальной пуриинуклеозид-фосфорилазы, слитой с человеческим аннексином A5 . . . . .	239
<b>Ильина В. Н.</b> Структурные особенности ценопопуляций курчавки кустарниковой ( <i>Atraphaxis frutescens</i> (L.) C. Koch, Polygonaceae) на территории ботанически ценных природных комплексов Самарской области . . . . .	245

### ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

<b>Екатерина Ивановна Слобожанина (К юбилею)</b> . . . . .	254
--	-----

**CONTENTS**

<b>Viazau Y. V., Kaliaha T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Y., Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Olshanikova A. L.</b> The effect of elicitors of bacterial origin on the functioning of the protective system of potato ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) seedlings infected with X-virus . . . . .	135
<b>Skuratovich T. A., Molchan O. B.</b> Content of phenolic compounds in the native and alien species of the <i>Bidens</i> genus growing in various regions of Belarus . . . . .	144
<b>Pshybytko N. L., Bachyshcha T. S., Kabashnikova L. F.</b> Influence of elevated temperature on electron flows in chloroplasts of barley . . . . .	153
<b>Shalygo N. V.</b> The pigment composition of <i>Haematococcus pluvialis</i> microalgae cells upon cultivated on biogenic-deficient media . . . . .	163
<b>Bedulenko M. A., Titok V. V.</b> The influence of mineral fertilizers on the components of <i>Monarda fistulosa</i> L. essential oil . . . . .	171
<b>Alekhnovich A. V., Molotkov D. V., Śliwińska K.</b> The current distribution of the freshwater crayfish (Decapoda: Astacidae, Cambaridae) in the Neman River basin in Belarus . . . . .	182
<b>Nedved H. L., Kalatskaja J. N., Laman N. A., Minkova V. V., Herasimovich K. M., Ovchinnikov I. A., Kopylova N. A., Filatova I. I., Lyushkevich V. A.</b> Stimulating effects of plasma and radio-wave treatments of red clover seeds on morphological and physiological parameters of seedlings . . . . .	191
<b>Stepuro I. I., Labor S. A., Stsiapura V. I., Yantsevich A. V.</b> Riboflavin-photosensitized thiamine oxidation in aqueous solutions on exposure to ultraviolet and visible light. . . . .	199
<b>Torchyk U. I.</b> Theoretical and practical aspects of the introduction of coniferous decorative forms in Belarus. . . . .	212
<b>Rupasova Zh. A., Vasilevskaya T. I., Krinitskaya N. B., Zadalia V. S., Pavlovsky N. B., Chizhik O. V., Filipenia V. L.</b> Assessment of influence of the method of vegetative propagation of varieties of <i>Vaccinium corymbosum</i> L. on the biochemical composition of the fruits . . . . .	220
<b>Nikitin A. N., Shurankova O. A., Cheshyk I. A., Leferd H. A., Mishchenko Ya. V., Zhukovskaya E. V., Sukhareva D. V.</b> Experimental assessment of influence of soil moisture on the <sup>137</sup> Cs accumulation in shoots of spring wheat . . . . .	229
<b>Bulatovski A. B., Zinchenko A. I.</b> Creation of strain – producer of bacterial purine nucleoside phosphorylase fused with human annexin A5 . . . . .	239
<b>Il'ina V. N.</b> Structural characteristics of the cenopopulations of <i>Atraphaxis frutescens</i> (L.) C. Koch (Polygonaceae) in the territory of botanically valuable natural complexes of the Samara region . . . . .	245

**SCIENTISTS OF BELARUS**

<b>Ekaterina Ivanovna Slobozhanina (To the Anniversary)</b> . . . . .	254
---	-----

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 632.93, 635.21, 57.047

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-135-143>

Поступила в редакцию 10.10.2019

Received 10.10.2019

**Е. В. Вязов<sup>1</sup>, Т. Г. Каляга<sup>1</sup>, Е. А. Филипчик<sup>1</sup>, О. Ю. Сафонова<sup>1</sup>, А. Н. Гритс<sup>2</sup>,  
Е. Н. Карасева<sup>2</sup>, Т. Б. Макарова<sup>2</sup>, А. Л. Ольшаникова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь

### **ВЛИЯНИЕ ЭЛИСИТОРОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ РАССАДЫ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.), ЗАРАЖЕННОЙ X-ВИРУСОМ**

**Аннотация.** Изучены содержание активных форм кислорода, активность фенольной пероксидазы и уровни экспрессии генов, кодирующих отдельные защитные белки в рассаде картофеля, выращенной на субстрате с добавлением препарата на основе *B. subtilis* и зараженной X-вирусом. Установлены уровень накопления активных форм кислорода и индукция компонентов защитной системы в листьях картофеля в присутствии данного препарата при заражении. Выявлено меньшее количество вирусного материала в опытных пробах рассады картофеля по сравнению с не обработанным *B. subtilis* контролем.

**Ключевые слова:** *Solanum tuberosum*, картофель, PR-белки, индуцированная устойчивость, X-вирус картофеля, элиситоры, защитная система, активные формы кислорода

**Для цитирования:** Влияние элиситоров бактериального происхождения на функционирование защитной системы рассады картофеля (*Solanum Tuberosum* L.), зараженной X-вирусом / Е. В. Вязов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бiял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 135–143. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-135-143>

**Yauhen V. Viazau<sup>1</sup>, Tatsiana G. Kaliha<sup>1</sup>, Elena A. Filipchik<sup>1</sup>, Olga Y. Safonova<sup>1</sup>, Aleksandr N. Grits<sup>2</sup>,  
Elena N. Karasiova<sup>2</sup>, Tatsiana B. Makarova<sup>2</sup>, Anna L. Olshaniikova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

### **THE EFFECT OF ELICITORS OF BACTERIAL ORIGIN ON THE FUNCTIONING OF THE PROTECTIVE SYSTEM OF POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) SEEDLINGS INFECTED WITH X-VIRUS**

**Abstract.** The reactive oxygen species content, the activity of phenolic peroxidase, and the expression levels of genes encoding certain defense proteins were studied in potato seedlings grown on a substrate with the addition of a preparation based on *B. subtilis* and infected with potato virus X. The accumulation of reactive oxygen species and the induction of the defense system components in potato leaves treated with this preparation and infected are shown. Less viral material was detected in experimental samples of potato seedlings compared with control untreated with *B. subtilis*.

**Keywords:** *Solanum tuberosum*, potato, PR proteins, induced resistance, potato virus X, elicitors, defense system, reactive oxygen species

**For citation:** Viazau Y. V., Kaliha T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Y., Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Olshaniikova A. L. The effect of elicitors of bacterial origin on the functioning of the protective system of potato (*Solanum tuberosum* L.) seedlings infected with X-virus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 135–143 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-135-143>

**Введение.** В условиях Беларуси картофель традиционно размножают клубнем (вегетирующим побегом), который зачастую накапливает вирусную и бактериальную инфекции. Для создания безвирусной рассады картофеля используют технологические методы микрочлонирувания регенерантов апикальной меристемы. В целях защиты последних от инфекции применяют индукторы устойчивости, стимулирующие иммунную систему растительного организма [1–3]. В настоящее время используют различные соединения, в частности салициловую кислоту, жасмоновую кислоту, хитозан, α-токоферол, а также микробиологические препараты – так называемые элиситоры (например, на основе бактерий рода *Bacillus*), вызывающие формирование

системной устойчивости растений к широкому спектру патогенов. При этом, в зависимости от используемого индуктора, может формироваться как системная приобретенная устойчивость (systemic acquired resistance), вызываемая в естественных условиях патогенами и насекомыми, так и индуцированная системная устойчивость (induced systemic resistance), вызываемая обычно бактериями и грибами, обитающими в ризосфере [4–6]. Так, например, салициловая кислота участвует в формировании устойчивости первого типа посредством индукции накопления PR-белков, фитоалексинов, реакции гиперчувствительности, генерации активных форм кислорода (АФК) и лигнификации клеточной стенки, а жасмоновая кислота – в формировании устойчивости второго типа, связанной с накоплением жасмонатов и активацией широкого спектра защитных реакций. Взаимодействие растения с патогенами во многом определяется сочетанием механизмов обеих форм системной устойчивости.

Салициловая кислота, жасмоновая кислота, хитозан,  $\alpha$ -токоферол и препараты на основе бактерий рода *Bacillus* благодаря их способности активировать механизмы индукции неспецифической защиты могут, в частности, быть использованы как индукторы вирусоустойчивости растений картофеля, защищающие их от возможного заражения вирусными патогенами на длительное время. Одним из наиболее распространенных таких патогенов является X-вирус картофеля (ХВК) [7].

Эффективность функционирования защитной иммунной системы растительных организмов можно изучать с помощью молекулярно-биологических подходов. Одним из таких подходов является анализ уровней экспрессии генов, кодирующих специфические защитные белки (в том числе PR-белки). Так, показано, что высокие уровни экспрессии генов, кодирующих  $\beta$ -1,3-глюканазу, хитиназу, тауматин-подобный белок и ингибитор протеиназ, связаны с большей устойчивостью растений пшеницы к патогенам [8].

Помимо уровней экспрессии генов защитных белков значимыми показателями функционирования защитной системы растения являются активность фенольной пероксидазы (ФПО), участвующей в лигнификации клеточной стенки [9], а также содержание фенольных соединений и АФК, играющих важную роль в формировании ответной реакции растительного организма на внедрение патогена.

Цель настоящей работы – анализ содержания активных форм кислорода и водорастворимых фенольных соединений, активности фенольной пероксидазы и уровней экспрессии генов, кодирующих маркер гиперчувствительного ответа,  $\beta$ -1,3-глюканазу, хитиназу, тауматин-подобный белок и ингибитор протеиназ, а также определение степени инфицирования вирусом листьев рассады картофеля при его заражении X-вирусом в присутствии элиситоров бактериального происхождения.

**Объекты и методы исследования.** В качестве объекта исследования использовали рассаду картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Уладар, которую выращивали под светодиодными источниками света при совместном использовании ламп Светозар и ДНаТ 400 (дуговые натриевые трубчатые лампы) на ионообменном субстрате «Триона» (разработан в Институте экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси), содержащем элиситоры микробного происхождения (препарат «Карфил» на основе бактериального штамма *Bacillus subtilis* 47). Помимо этого субстрат включал цеолит, катионит Purolite C-100, анионит Tulsion A2ХМП и перлит в соотношении 14:1:5:20. Заражение ХВК проводили путем микроинъекции в верхушечную часть 20-дневных растений, одновременно натирая листья клеточным соком растений-доноров ХВК при помощи мелкозернистой наждачной бумаги [10]. Навески четвертого листа растения брали для исследования в день заражения, а также через 1 и 2 недели после него.

Общий уровень АФК в экстрактах растений картофеля определяли с помощью зонда – 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата, который в присутствии АФК окисляется до флуоресцирующего продукта дихлорфлуоресцеина [11]. Содержание пероксида водорода оценивали с помощью флуоресцентного метода, в основе которого лежит реакция окисления скополетина в присутствии  $H_2O_2$ , катализируемая пероксидазой хрена [12].

Для определения активности ФПО использовали методику, описанную в работе [13]. Кинетику реакции регистрировали в течение 8–10 мин при длине волны поглощения 436 нм. О скорости

реакции судили по наклону кривой кинетики. Активность ФПО рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции  $25,5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

Содержание водорастворимых фенольных соединений оценивали спектрофотометрическим методом и рассчитывали в относительных единицах [14]. Содержание общего белка определяли по методу Бредфорда [15].

Для оценки уровней экспрессии генов, кодирующих PR-белки, из листьев картофеля выделяли общую РНК с помощью реагента TRIzol<sup>TM</sup> (Applied Biosystems, Германия). Количество выделенной РНК определяли по поглощению света при 260 нм на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США). Степень чистоты полученных образцов оценивали по соотношению  $A_{260}$  к  $A_{280}$  (данный показатель должен быть больше 1,7) [16]. Для получения кДНК на матрице РНК использовали реакцию обратной транскрипции с применением обратной транскриптазы вируса мышиной лейкемии Молони. Синтез кДНК осуществляли с помощью ProtoScript II Reverse Transcriptase (BioLabs, США) в амплификаторе MJ Mini (Bio-Rad, США). Полученную кДНК хранили в морозильной камере при  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  [16]. Для подбора ген-специфичных олигонуклеотидных праймеров, специфичных к генам защитных белков, использовали последовательности мРНК выбранных генов, найденных в базе данных “Nucleotide” NCBI. Праймеры синтезировали в лаборатории ДНК-праймеров Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Праймеры для генов *Chit*, *Glu*, *Tlp*, *Prlnh*, *HSR* подбирали самостоятельно, а для гена-нормализатора *EF*, кодирующего фактор элонгации  $1\alpha$ , взяли из работы [17]. Уровень экспрессии генов определяли методом ПЦР-анализа в реальном времени (ПЦР-РВ). Реакционная смесь (10 мкл) содержала: 1 мкл кДНК; 10 пмоль каждого праймера; 4 мкл 2,5-кратной реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVA Green («СИНТОЛ», Россия) и воду. ПЦР-РВ проводили с использованием термоциклера C1000 Touch Thermal Cycler с оптическим реакционным модулем CFX96 (Bio-Rad, США) в следующих условиях: предварительная денатурация – при  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  5 мин; плавление – при  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  15 с; отжиг – при  $55\text{--}60 \text{ }^\circ\text{C}$  45 с. Количество циклов амплификации – 40–50. Для обработки полученных результатов использовали программу Bio-Rad CFX Maestro.

Фитовирусы картофеля определяли с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА) согласно инструкции [18]. Пробы отбирали через 20 дней после инфицирования.

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программы Excel 2010 (Microsoft, США) и SigmaPlot 12.5 (SYSTAT Software). Рассчитывали среднее арифметическое значений отдельных повторностей, стандартную ошибку среднего и достоверность отличий между средними величинами [19]. Все описанные эксперименты проводили в трехкратной биологической повторности.

**Результаты и их обсуждение.** В ходе исследования проведен анализ содержания АФК и активности защитной системы рассады картофеля при внесении биопестицида «Карфил» на основе штамма *Bacillus subtilis* 47 в качестве индуктора устойчивости в состав корнеобитаемой среды ионообменного субстрата № 2 со следующими концентрациями этого препарата: 0, 10, 50 и 100 мл/л раствора (варианты «Контроль», «*B. sub.* 10р», «*B. sub.* 50р», «*B. sub.* 100р») соответственно, где р означает промилле, мл/л). Препарат «Карфил» в данном случае выступал в качестве индуктора защитной системы растения благодаря присутствию в его составе элиситоров бактериального происхождения.

В исходных пробах, до заражения рассады вирусами, наибольшее общее содержание АФК было отмечено в вариантах «*B. sub.* 50р» и «*B. sub.* 100р» (рис. 1, а), где оно было выше контроля примерно в 2 раза. Данный эффект мог быть вызван индуцирующим действием самого препарата, а также его элиситорными компонентами, которые, не являясь патогенами для растения, стимулировали его естественные защитные механизмы. Напротив, содержание пероксида водорода в исходных пробах было более высоким в контроле и при низкой концентрации препарата (вариант «*B. sub.* 10р») (рис. 1, б).

Через 1 неделю после заражения ХВК содержание АФК в контроле возросло в 1,5 раза по сравнению с исходным значением, что отражает сам процесс инфицирования ХВК, при этом в варианте «*B. sub.* 10р» количество АФК оставалось без изменения по отношению к контролю, а в вариантах «*B. sub.* 50р» и «*B. sub.* 100р» уровень АФК снижался в среднем в 1,4 раза. Подобная

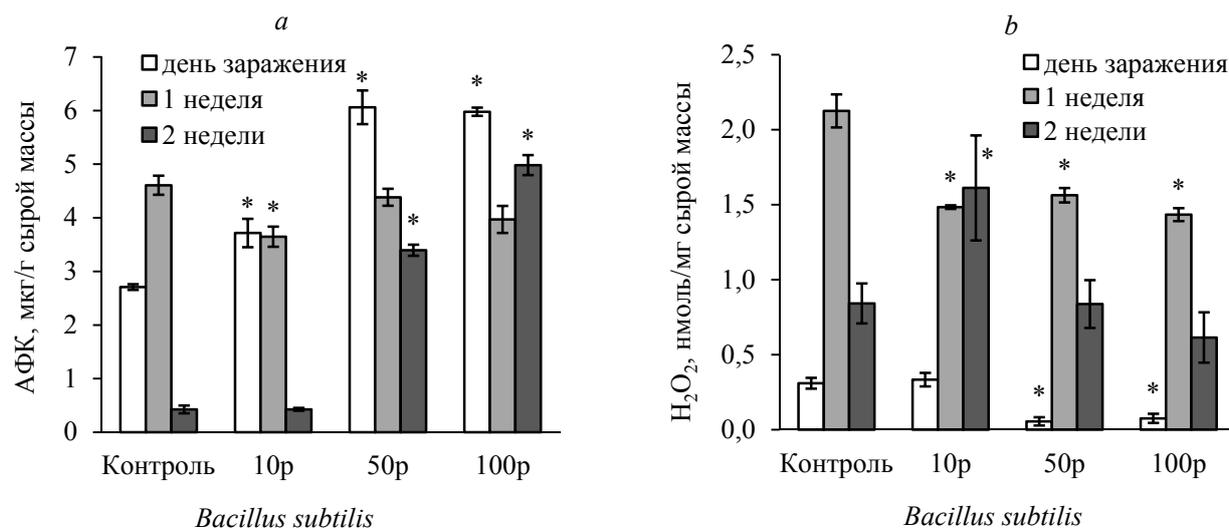


Рис. 1. Общее содержание АФК (a) и содержание  $H_2O_2$  (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем препарат на основе *Bacillus subtilis*. Здесь и далее \* – статистически значимые отличия от контроля ( $p \leq 0,05$ )

Fig. 1. Total ROS content (a) and  $H_2O_2$  content (b) in potato seedlings grown on substrate containing preparation based on *Bacillus subtilis*. Here and elsewhere, \* – statistically significant difference from control ( $p \leq 0.05$ )

сложная динамика изменения уровня АФК при заражении ХВК на фоне действия препарата «Карфил» в вариантах «*B. sub.* 50p» и «*B. sub.* 100p» обусловлена, по-видимому, общим стрессо-протекторным действием препарата, которое в значительной степени компенсирует эффект повышения АФК при инфицировании ХВК.

Спустя 2 недели после заражения растений вирусом в контроле и в варианте «*B. sub.* 10p» резко уменьшалось количество АФК (в среднем в 7,3 раза), в варианте «*B. sub.* 50p» снижение уровня АФК составляло 35 %, а в варианте «*B. sub.* 100p», напротив, оно возрастало на 24 % относительно показателей, зарегистрированных через 1 неделю после заражения вирусом соответственно. Вероятно, такая динамика изменения уровня АФК в инфицированных растениях обусловлена временными процессами взаимодействия элиситорных компонентов препарата, а также развитием с течением времени процесса заражения. Учитывая значимость АФК как сигнальных молекул, можно предположить, что вариант «*B. sub.* 100p» является наиболее перспективным с точки зрения формирования индуцированной устойчивости к ХВК в рассаде картофеля.

Возвращаясь к анализу содержания  $H_2O_2$ , следует отметить эффект резкого возрастания количества  $H_2O_2$  спустя 1 неделю после заражения в контрольной рассаде. Содержание пероксида водорода увеличивалось также и в опытных вариантах, но в меньшей степени. Вместе с тем стоит подчеркнуть, что через 2 недели после заражения наблюдалось снижение содержания  $H_2O_2$  в вариантах «*B. sub.* 50p» и «*B. sub.* 100p».

Таким образом, элиситорные компоненты микробиологического препарата на основе *B. subtilis* в целом при добавлении их в качестве компонента корнеобитаемой среды приводили к заметному возрастанию уровня АФК, особенно в вариантах «*B. sub.* 50p» и «*B. sub.* 100p». Более низкие по сравнению с контролем уровни  $H_2O_2$  в указанных вариантах позволяют предположить активацию систем детоксикации пероксида водорода, в частности аскорбат-глутатионового цикла [20], в рамках формирования индуцированной устойчивости рассады картофеля под действием элиситоров бактериального происхождения.

В ходе изучения компонентов защитной системы обнаружено, что в исходных пробах активность ФПО в вариантах с использованием препарата была ниже контроля практически в 2 раза (рис. 2, a). Вместе с тем через 1 неделю после заражения ХВК активность ФПО в контроле снижалась в 1,7 раза, а в вариантах «*B. sub.* 10p», «*B. sub.* 50p» и «*B. sub.* 100p», напротив, увеличивалась в 1,6; 1,6 и 2,2 раза соответственно по сравнению с исходными значениями. Спустя 2 недели после заражения в контрольных растениях активность ФПО продолжала уменьшаться. Активность

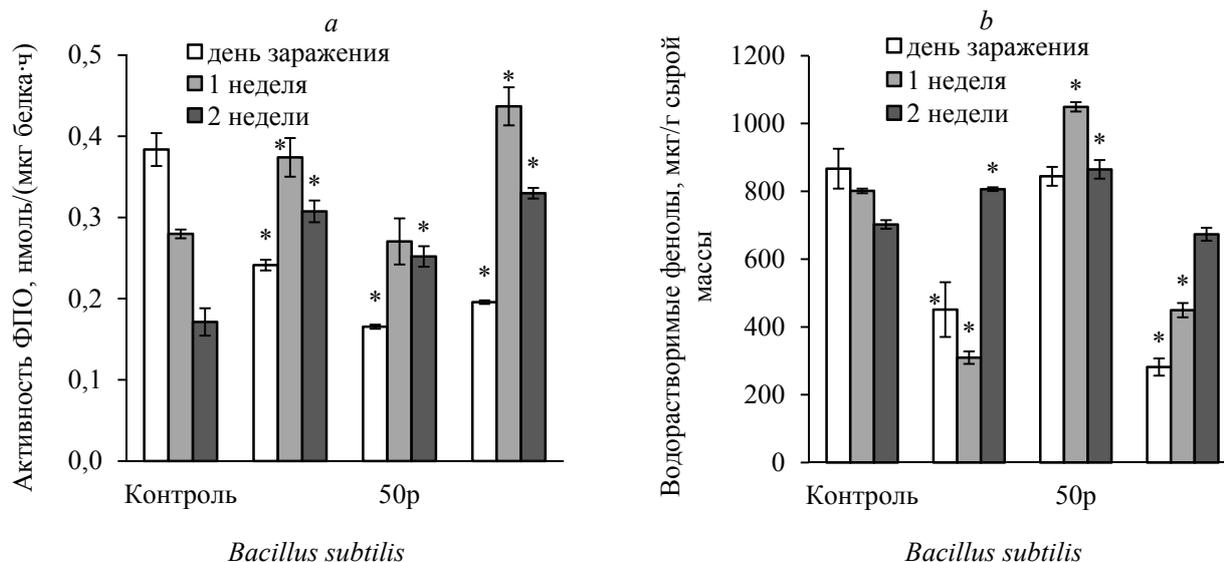


Рис. 2. Активность ФПО (a) и содержание водорастворимых фенолов (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем препарат на основе *Bacillus subtilis*

Fig. 2. Phenolic peroxidase activity (a) and water-soluble phenolics content (b) in potato seedlings grown on substrate containing preparation based on *Bacillus subtilis*

фермента в рассаде, выращенной в присутствии элиситоров, была также ниже через 2 недели после заражения, чем через 1 неделю. Тем не менее активность фенольной пероксидазы в такой рассаде оставалась выше исходных значений, а также превышала контроль. Таким образом, добавление элиситоров положительно влияло на активность ФПО в условиях заражения ХВК.

Как правило, в растительных клетках между активностью ФПО и количеством водорастворимых фенольных соединений существует обратная корреляция, а именно: чем выше активность фермента, тем ниже уровень фенолов, так как указанные соединения потребляются в ходе работы фермента. Эта закономерность однозначно не выявлена для рассады картофеля, зараженной вирусом (рис. 2, b), что в принципе объяснимо. Так, известно, что водорастворимые фенольные соединения не только являются субстратом ФПО, но и выполняют функцию тушителей свободных радикалов в растительной клетке.

Для дальнейшего изучения активности защитной системы рассады картофеля была проанализирована экспрессия 5 генов, кодирующих специфические защитные белки. Так, в зараженных и незараженных растениях контрольного и опытных вариантов определяли экспрессию гена – маркера гиперчувствительного ответа (*HSR*), отвечающего за быстрый ответ клетки на проникновение патогена; гена *Chit*, кодирующего хитиназу, гидролизующую хитин грибов; гена *TLP*, кодирующего тауматин-подобный белок, лизирующий грибные споры; гена, кодирующего эффективный ингибитор протеиназ (*PrInh*), и гена β-1,3-глюканазы (*Glu*), расщепляющей глюканы грибов. В результате анализа для исходных проб была выявлена следующая закономерность: по мере увеличения добавляемого количества препарата повышалась экспрессия большинства изучаемых генов (*HSR*, *Chit*, *TLP* и *Glu*) по сравнению с контролем. Особенно резко она возрастала в варианте «*B. sub.* 100р» (табл. 1).

В целом, по уровню экспрессии гены можно расположить в следующем порядке: *TLP* > *Chit* > *Glu* > *HSR* > *PrInh*. Согласно полученным данным, спустя 1 неделю после заражения растений ХВК в контроле и в варианте «*B. sub.* 10р» экспрессия генов *HSR*, *TLP*, *Chit* и *Glu* оставалась на исходном уровне, в то время как в вариантах «*B. sub.* 50р» и «*B. sub.* 100р», напротив, она резко снижалась относительно исходного уровня. Через 2 недели в зараженной вирусом рассаде только в варианте «*B. sub.* 100р» экспрессия генов претерпела значительное увеличение по сравнению со значениями, полученными через 1 неделю после заражения.

При изучении экспрессии гена *PrInh* имели место некоторые характерные особенности (табл. 1). В частности, изначально уровень экспрессии данного гена возрастал относительно контроля по мере увеличения концентрации *Bacillus subtilis* до 50р, но при его концентрации 100р уровень экспрессии снижался и приближался к контролю. Тем не менее, через 2 недели после заражения уровень экспрессии *PrInh* в варианте «*B. sub.* 100р» резко возрастал и превышал исходное значение практически в 2 раза. Подобные колебания в экспрессии данного гена, вероятно, объясняются цикличностью во времени разворачивания защитных механизмов растения при вирусном инфицировании.

Таблица 1. Экспрессия генов, кодирующих защитные белки, в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем препарат на основе *Bacillus subtilis*

Table 1. Expression of defense protein genes in the leaves of potato seedlings grown on substrate containing preparation based on *Bacillus subtilis*

Ген/время с момента заражения		Нормализованная экспрессия, %			
		Контроль	<i>B. sub.</i> 10р	<i>B. sub.</i> 50р	<i>B. sub.</i> 100р
<i>TLP</i>	День заражения	1,00 ± 0,01	0,58 ± 0,25	4,32 ± 1,50	14,23 ± 1,36*
	1 неделя	1,53 ± 0,25	1,42 ± 0,34	0,83 ± 0,40*	1,07 ± 0,60
	2 недели	0,1 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,48 ± 0,03	2,65 ± 0,55*
<i>Chit</i>	День заражения	1,00 ± 0,14	0,24 ± 0,04*	1,19 ± 0,08	7,85 ± 0,65*
	1 неделя	0,68 ± 0,10	0,15 ± 0,05*	0,64 ± 0,02	1,49 ± 0,30*
	2 недели	0,01 ± 0,00	0,44 ± 0,04*	1,84 ± 0,01*	2,36 ± 0,16*
<i>HSR</i>	День заражения	1,00 ± 0,04	0,96 ± 0,04	1,69 ± 0,27*	3,48 ± 0,86*
	1 неделя	1,00 ± 0,32	0,99 ± 0,12*	0,89 ± 0,43*	1,19 ± 0,49*
	2 недели	1,07 ± 0,12	0,29 ± 0,02	0,87 ± 0,04*	2,65 ± 0,01*
<i>Glu</i>	День заражения	1,00 ± 0,07	0,03 ± 0,01	0,34 ± 0,09*	6,04 ± 0,67*
	1 неделя	0,21 ± 0,08	0,18 ± 0,00	0,12 ± 0,07	1,49 ± 0,55*
	2 недели	2,45 ± 0,15	0,89 ± 0,02*	1,84 ± 0,28*	1,01 ± 0,07*
<i>PrInh</i>	День заражения	1,00 ± 0,16	1,83 ± 0,00*	2,48 ± 0,37*	1,39 ± 0,10*
	1 неделя	0,86 ± 0,02	1,42 ± 0,43	0,74 ± 0,23	0,02 ± 0,02*
	2 недели	0,73 ± 0,02	0,01 ± 0,00*	0,03 ± 0,00*	2,65 ± 0,28*

Примечание. Контроль – без добавления *Bacillus subtilis*.

Для оценки степени вирусного инфицирования в листьях рассады картофеля нами был проведен ИФА с пробами следующих вариантов: «контроль» без заражения, «контроль» с заражением ХВК и «*B. sub.* 100р», также с заражением ХВК. Пробы отбирались через 20 дней после инфицирования. Показано, что после заражения ХВК как в контроле, так и в варианте «*B. sub.* 100р» регистрируется увеличение ОП<sub>492</sub> (табл. 2), что говорит об успешном заражении. В то же время пробы рассады картофеля, выращенной на субстрате с добавлением 100 мл/л препарата на основе *B. subtilis*, характеризовались почти вдвое меньшим значением ОП<sub>492</sub>, чем контроль (с заражением). По-видимому, это свидетельствует о более эффективной работе защитной системы, индуцированной препаратом, в частности ее компонентов, участвующих в элиминации проникшего патогена.

Таблица 2. Данные ИФА с антителами для ХВК в пробах зараженных и незараженных растений картофеля

Table 2. Data of ELISA with antibodies for potato virus X in infected and uninfected potato plants samples

Вариант	Контроль без заражения	Контроль с заражением	<i>B. sub.</i> 100р зараженный
ОП <sub>492</sub>	0,12	0,46	0,27

**Заклучение.** Полученные результаты показывают, что использование микробиологического препарата на основе *B. subtilis* в условиях заражения ХВК в целом приводит к увеличению содержания АФК, активности ФПО и уровней экспрессии генов, кодирующих отдельные защитные белки (хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу, тауматин-подобный белок), а также гена – маркера гиперчувствительного ответа. Кроме того, это позволяет снизить содержание ХВК в листьях рассады картофеля при заражении вирусом. Таким образом, препарат на основе *B. subtilis* в концентрации 50 и 100 мл/л в субстрате вызывает индукцию защитной системы рассады картофеля и формирование устойчивости к ХВК.

**Благодарности.** Работа финансирована в рамках Государственной программы Республики Беларусь «Научные технологии и техника» (мероприятие 34, 2016–2020 гг.).

**Acknowledgements.** This work was supported by the State Program of the Republic of Belarus “Science-intensive technologies and equipment”, grant 34 (2016–2020).

### Список использованных источников

1. Янчевская, Т. Г. Оптимизация минерального питания растений / Т. Г. Янчевская. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 456 с.
2. Янчевская, Т. Г. Физиолого-биохимическая оптимизация минерального питания растений / Т. Г. Янчевская. – LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. – 547 с.
3. Stimulation of cellular mechanisms of potato antiviral resistance by the action of a preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria / T. G. Yanchevskaya [et al.] // Appl. Biochem. Microbiol. – 2018. – Vol. 54, N 3. – P. 324–330. <https://doi.org/10.1134/S0003683818030158>
4. Поликсенова, В. Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата) / В. Д. Поликсенова // Вестн. БГУ. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2009. – № 1. – С. 48–60.
5. Choudhary, D. K. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action / D. K. Choudhary, A. Prakash, B. N. Johri // Indian J. Microbiol. – 2007. – Vol. 47, N 4. – P. 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
6. Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants / F. J. Romera [et al.] // Front. Plant Sci. – 2019. – Vol. 10. – Art. 287. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00287>
7. Salazar, L. F. Potato viruses and their control / L. F. Salazar. – Lima, Peru : Intern. Potato Center (CIP), 1996. – 214 p.
8. PR-белки как маркеры устойчивости озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к листовым патогенам / Е. В. Вязов [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 3. – С. 286–291.
9. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.) / В.-R. Lee [et al.] // J. Exp. Botany. – Vol. 58, N 6. – P. 1271–1279. <https://doi.org/10.1093/jxb/er1280>
10. Инокуляция, накопление и идентификация вируса PVY картофеля в тест-растениях *Nicotiana tabacum* / В. Т. Хасанов [и др.] // Вестн. КАТУ им. С. Сейфуллина. – 2012. – № 4 (75). – С. 31–36.
11. Crow, J. P. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine123 are sensitive indicators of peroxynitrite *in vitro*: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species / J. P. Crow // Nitric Oxide. – 1997. – Vol. 1, N 2. – P. 145–157. <https://doi.org/10.1006/niox.1996.0113>
12. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from activated human leukocytes using a dihydroxyphenoxazine derivative / J. G. Mohanty [et al.] // J. Immunol. Methods. – 1997. – Vol. 202, N 2. – P. 133–141. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(96\)00244-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(96)00244-X)
13. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress / T. Gechev [et al.] // J. Plant Physiol. – 2003. – Vol. 160, N 5. – P. 509–515. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00753>
14. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 272 с.
15. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72, N 1–2. – P. 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
16. Технология ДНК-типирования генов устойчивости ячменя к засухе: метод. указания / И. Н. Доманская [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2011. – 31 с.
17. Пасалари, Х. Экспрессия генов защитного ответа в листьях трансгенного картофеля после обработки глифосатом / Х. Пасалари, А. Н. Евтушенков // Вестн. БГУ. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2016. – № 1. – С. 31–35.
18. Инструкция по использованию иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля / Рос. с.-х. акад. НПО по картофелеводству. – М. : Коренево, 2011. – 8 с.
19. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика: учеб. пособие / П. Ф. Рокицкий. – 3-е изд., испр. – Минск : Выш. шк., 1973. – 318 с.
20. Asada, K. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks / K. Asada // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2000. – Vol. 355, N 1402. – P. 1419–1431. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0703>

## References

1. Yanchevskaya T. G. *Optimisation of mineral nutrition of plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 456 p. (in Russian).
2. Yanchevskaya T. G. *Physiological and biochemical optimisation of mineral nutrition of plants*. S. 1., LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. 547 p. (in Russian).
3. Yanchevskaya T. G., Grits A. N., Kolomiets E. I., Romanovskaya T. V., Yarullina L. G., Ibragimov R. I., Tsvetkov V. O. Stimulation of cellular mechanisms of potato antiviral resistance by the action of a preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2018, vol. 54, no. 3, pp. 324–330. <https://doi.org/10.1134/S0003683818030158>
4. Poliksenova V. D. Induced resistance of plants to pathogens and abiotic stress factors (on the example of tomato). *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2, Chemistry. Biology. Geography], 2009, no. 1, pp. 48–60 (in Russian).
5. Choudhary D. K., Prakash A., Johri B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 2007, vol. 47, no. 4, pp. 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
6. Romera F. J., García M. J., Lucena C., Martínez-Medina A., Aparicio M. A., Ramos J., Alcántara E., Angulo M., Pérez-Vicente R. Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, art. 287. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00287>
7. Salazar L. F. *Potato viruses and their control*. Lima, Peru, Intern. Potato Center (CIP), 1996. 214 p.
8. Vyazov E. V., Radyuk M. S., Filipchik E. A., Shalygo N. V. PR-proteins as markers of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) resistance to leaf pathogens. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 3, pp. 286–291 (in Russian).
9. Lee B. R., Kim K. Y., Jung W. J., Avicé J. C., Ourry A., Kim T. H. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany*, vol. 58, no. 6, pp. 1271–1279. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl280>
10. Khasanov V. T., Muranets A. P., Orazbaeva G. K., Bukaev A. A. Inoculation, accumulation and identification of potato PVY virus in *Nicotiana tabacum* test plants. *Vestnik nauki Kazakhskogo agrotekhnicheskogo universiteta im. S. Seifullina = Bulletin of Science of the Kazakh Agro Technical University named after S. Seifullina*, 2012, no. 4 (75), pp. 31–36 (in Russian).
11. Crow J. P. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine123 are sensitive indicators of peroxynitrite *in vitro*: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. *Nitric Oxide*, 1997, vol. 1, no. 2, pp. 145–157. <https://doi.org/10.1006/niox.1996.0113>
12. Mohanty J. G., Jaffe J. S., Schulman E. S., Raible D. G. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from activated human leukocytes using a dihydroxyphenoxazine derivative. *Journal of Immunological Methods*, 1997, vol. 202, no. 2, pp. 133–141. [https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(96\)00244-x](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(96)00244-x)
13. Gechev T., Willekens H., Van Montagu M., Inzé D., Van Camp W., Toneva V., Minkov I. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress. *Journal of Plant Physiology*, 2003, vol. 160, no. 5, pp. 509–515. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00753>
14. Zaprometov M. N. *Phenolic compounds: distribution, metabolism and functions in plants*. Moscow, Nauka Publ., 1993. 272 p. (in Russian).
15. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantization 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/10.1006/abio.1976.9999>
16. Domanskaya I. N., Radyuk M. S., Budakova E. A., Samovich T. V., Spivak E. A., Shalygo N. V. *DNA typing technology for genes of barley resistance to drought: guidelines*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2011. 31 p. (in Russian).
17. Pasalari H., Evtushenkov A. N. PR-genes expression in the lives of transgenic potato plants after glyphosate treatment. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2, Chemistry. Biology. Geography], 2016, no. 1, pp. 31–35 (in Russian).
18. *Instructions for use of the enzyme-linked immunosorbent assay kit for the determination of potato viruses*. Moscow, Korenevo Publ., 2011. 8 p. (in Russian).
19. Rokitskii P. F. *Biological statistics. 3rd ed.* Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 318 p. (in Russian).
20. Asada K. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2000, vol. 355, no. 1402, pp. 1419–1431. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0703>

## Информация об авторах

Вязов Евгений Викторович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [viazau@yahoo.com](mailto:viazau@yahoo.com)

Калыга Татьяна Геннадьевна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [t\\_kalyaga@mail.ru](mailto:t_kalyaga@mail.ru)

## Information about the authors

Yauhen V. Viazau – 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: [viazau@yahoo.com](mailto:viazau@yahoo.com)

Tatsiana G. Kaliaga – 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: [t\\_kalyaga@mail.ru](mailto:t_kalyaga@mail.ru)

*Филипчик Елена Александровна* – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lenafil050494@mail.ru

*Сафонова Ольга Юрьевна* – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olga.safonova.1995@mail.ru

*Гриц Александр Николаевич* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alexander196431@yahoo.com

*Карасева Елена Николаевна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ledymc\_net@mail.ru

*Макарова Татьяна Борисовна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t62makarova@mail.ru

*Ольшаникова Анна Леонидовна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: annaolshanikova@mail.ru

*Elena A. Filipchik* – 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: lenafil050494@mail.ru

*Olga Y. Safonova* – 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: olga.safonova.1995@mail.ru

*Aleksandr N. Grits* – 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: alexander196431@yahoo.com

*Elena N. Karasiova* – 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: ledymc\_net@mail.ru

*Tatsiana B. Makarova* – 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: t62makarova@mail.ru

*Anna L. Olshanikova* – 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: annaolshanikova@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.524.2:582.998:581.192(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-144-152>

Поступила в редакцию 10.10.2019

Received 10.10.2019

**Т. А. Скуратович, О. В. Молчан**

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

### **СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В АБОРИГЕННОМ И ИНВАЗИВНЫХ ВИДАХ РОДА *BIDENS*, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ БЕЛАРУСИ**

**Аннотация.** Исследовано содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов в отдельных органах и траве трех видов череды (инвазивные виды – *Bidens frondosus* L. и *Bidens connatus* Willd., аборигенный вид – *Bidens tripartitus* L.), произрастающих в различных регионах Беларуси. Установлено, что максимальным накоплением соединений фенольной природы (сумм фенольных соединений и флавоноидов) характеризуются листья. Содержание данных метаболитов уменьшается в ряду «листья – соцветия – стебли и корни». Доля флавоноидов в листьях и соцветиях составляет в среднем 14 % от содержания фенольных соединений. Накопление фенольных метаболитов в траве растений череды олиственной, сростной и трехраздельной в зависимости от условий произрастания изменяется в среднем от 60, 55, 90 до 155, 130, 115 мг/г сухой массы, флавоноидов – от 7, 11, 8 до 20, 15, 19 мг/г сухой массы соответственно. Череда олиственная и сростная имеют более широкий диапазон варьирования сумм фенольных соединений в зависимости от условий произрастания, чем череда трехраздельная. В то же время сравнительный анализ сумм соединений фенольной природы в растениях разных видов череды, собранных в географически близких локалитетах, показал отсутствие значительных различий в содержании данных вторичных метаболитов в чужеродных и аборигенном видах.

**Ключевые слова:** *Bidens frondosus* L., *Bidens connatus* Willd., *Bidens tripartitus* L., фенольные соединения, флавоноиды

**Для цитирования:** Скуратович, Т. А. Содержание фенольных соединений в аборигенном и инвазивных видах рода *Bidens*, произрастающих в различных регионах Беларуси / Т. А. Скуратович, О. В. Молчан // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 144–152. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-144-152>

**Tatyana A. Skuratovich, Olga B. Molchan**

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

### **CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE NATIVE AND ALIEN SPECIES OF THE *BIDENS* GENUS GROWING IN VARIOUS REGIONS OF BELARUS**

**Abstract.** The content of phenolic compounds and flavonoids in separate organs and aerial parts of *Bidens* species growing in different regions of Belarus was studied (alien species – *Bidens frondosus* L. and *Bidens connatus* Willd., native species – *Bidens tripartitus* L.). It was found that the leaves were characterized by the maximum accumulation of total phenolic compounds and total flavonoids. The accumulation of these metabolites decreased in the row of “leaves – inflorescences – stems and roots”. Approximately 14 % of phenolic compounds in leaves and inflorescences were flavonoids. The accumulation of phenolic compounds in the aerial parts of *B. frondosus*, *B. connatus* and *B. tripartitus*, depending on the growing conditions, varied from 60, 55, 90 to 155, 130, 115 mg/g dry weight, flavonoids – from 7, 11, 8 to 20, 15, 19 mg/g dry weight, correspondingly. *B. frondosus* and *B. connatus* demonstrated a wider range of variation in the sum of phenolic compounds than *B. tripartitus*. A comparative analysis of the total phenolic accumulation in plants of different species collected in geographically close localities showed the absence of significant differences in the content of the studied secondary metabolites in alien and native species of *Bidens*.

**Keywords:** *Bidens frondosus* L., *Bidens connatus* Willd., *Bidens tripartitus* L., phenolic compounds, flavonoids

**For citation:** Skuratovich T. A., Molchan O. B. Content of phenolic compounds in the native and alien species of the *Bidens* genus growing in various regions of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 144–152 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-144-152>

**Введение.** Род *Bidens* насчитывает около 230 видов, которые произрастают в тропических, субтропических и умеренных широтах, преимущественно в Южной и Северной Америке [1]. Наиболее распространенными аборигенными видами этого рода в Беларуси являются череда трехраздельная (*Bidens tripartitus* L.) и череда поникшая (*Bidens cernuus* L.), реже встречается череда лучистая (*Bidens radiatus* Thuill.) [2]. В 1955 г. в Беларуси впервые был зафиксирован чужеродный вид североамериканского происхождения – череда олиственная (*Bidens frondosus* L.) [2]. В настоящее время *B. frondosus* входит в список 50 самых распространенных инвазивных видов Европы [3].

По данным Н. В. Васильевой [4], основным механизмом воздействия *B. frondosus* на аборигенные виды череды является поглощение последних в процессе активной гибридизации и конкуренции с ними за имеющиеся ресурсы, что позволяет *B. frondosus* активно внедряться в растительные сообщества. Череда олиственная имеет более высокую конкурентоспособность по сравнению с чередой трехраздельной, поскольку обладает более высокими темпами развития и накопления биомассы, особенно в начале онтогенеза [4]. По данным, приведенным в работе [5], высота *B. frondosus* на 35 % превышает высоту растений аборигенных видов рода *Bidens*. Сухая масса растения *B. frondosus* больше массы *B. tripartitus* в 1,5 раза. При одинаковой толщине листа небольшая плотность листьев *B. frondosus* обуславливает меньший (в 1,2 раза) сухой вес единицы площади листа, чем у *B. tripartitus*. Авторы работы полагают, что эти структурные особенности листьев *B. frondosus* способствуют оптимизации процессов газообмена и позволяют развить большую ассимиляционную поверхность на единицу массы растения. Анализ семенной продуктивности показал, что в ряду *B. tripartitus* – *B. frondosus* увеличивалось число корзинок, но снижалось число семян в одной корзинке и количество семян в расчете на одно растение. При этом масса 100 семян у *B. frondosus* по сравнению с *B. tripartitus* была в 1,6 раза больше [5].

В начале 1980-х годов в Беларуси был отмечен еще один инвазивный вид череды – череда сростная (*Bidens connatus* Willd.) [6, 7]. Это травянистое однолетнее растение североамериканского происхождения. Высота растений составляет 25–150 см, иногда может достигать 2 м. В последнее время этот вид, как и череда олиственная, интенсивно распространяется по территории нашей республики [8]. При этом инвазионный потенциал *B. connatus* изучен гораздо меньше.

В связи с изложенным выше места естественного обитания аборигенного вида череды трехраздельной значительно сокращаются. А между тем череда трехраздельная является известным лекарственным растением и включена в фармакопею многих стран мира [9]. Травя *B. tripartitus* улучшает пищеварение, нормализует обмен веществ, обладает противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами [10]. Активное распространение чужеродных видов череды по территории Беларуси, высокие темпы накопления биомассы и морфологическое сходство с аборигенным видом являются факторами, обуславливающими необходимость определения содержания биологически активных соединений в сырье инвазивных видов череды для оценки перспектив его возможного хозяйственного использования. Кроме того, череда олиственная была включена во второе издание Государственной фармакопеи Республики Беларусь (2016 г.) наряду с аборигенным видом – чередой трехраздельной [11]. В то же время в качестве лекарственного сырья данный чужеродный вид не используется в соседних странах – ни в России, ни на Украине. Таким образом, биохимические особенности инвазивных видов череды требуют углубленного изучения, поскольку качественный и количественный состав биологически активных веществ (БАВ), определяющих как фармакологическую, так и хозяйственную ценность растительного сырья, обусловлен не только генетическим потенциалом, но и условиями произрастания вида.

Фенольные соединения – одна из самых больших групп БАВ растений [12, 13]. Многие соединения фенольной природы, являясь мощными ингибиторами или активаторами митотического цикла клетки, являются ключевыми компонентами как лекарственных, так и используемых в растениеводстве препаратов. Особо следует отметить антиоксидантную способность флавоноидов. Фенольные соединения принимают участие в обмене веществ, а также выполняют защитные функции в условиях стресса. Существуют немногочисленные литературные данные [14] о том, что надземная часть *B. frondosus* содержит простые полифенолы, фенолкарбоновые кислоты и флавоноиды. Однако необходимо отметить, что состав и содержание фенольных метаболитов

инвазивных видов череды, произрастающих в различных регионах Беларуси, к настоящему времени практически не изучены. Поэтому такие исследования весьма актуальны.

Цель данной работы – оценка содержания сумм фенольных соединений и флавоноидов инвазивных (череды олиственной и череды сростной) и аборигенного (череды трехраздельной) видов, выявленных в различных регионах, а также в географически близких локалитетах на территории Беларуси.

**Материалы и методы исследования.** Объектами исследования были собранные в фазу бутонизации и начала цветения трава *Herba Bidentis* (облиственные верхушки стеблей и боковых ветвей длиной не более 15 см и крупные листья), очищенные от листьев стебли, листья и соцветия *B. frondosus*, *B. connatus* и *B. tripartitus*. Сбор сырья был произведен в различных регионах и географически близких локалитетах Беларуси.

Сырье высушивали при комнатной температуре до воздушно-сухого состояния, измельчали до состояния пудры.

Суммы фенольных соединений и флавоноидов определяли спектрофотометрически с использованием реактива Фолина–Дениса [15] и хлорида алюминия [16] в пересчете на хлорогеновую кислоту и лютеолин-7-О-глюкозид соответственно, оптическую плотность поглощения – с помощью спектрофотометра СФ 2000 (Россия).

Эксперименты были выполнены в трехкратной повторности. Данные в таблицах и на гистограммах представлены в виде средней арифметической величины и ошибки средней величины.

**Результаты и их обсуждение.** Растения *B. frondosus*, *B. connatus* и *B. tripartitus* были собраны в 27 различных локалитетах на территории Республики Беларусь. В траве и различных органах всех образцов изучено содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов. Исследование показало, что уровень накопления метаболитов варьируется в очень широком диапазоне значений. В табл. 1–3 представлены результаты исследования содержания сумм фенольных соединений и флавоноидов в растениях с максимальным, промежуточным и минимальным накоплением данных метаболитов: в черede олиственной (собранной в Любанском, Солигорском районах и г. Минске), черede сростной (в Шарковщинском, Вилейском, Дзержинском районах) и черede трехраздельной (в Глубокском, Борисовском, Житковичском районах). Так, в образцах травы, собранных в Любанском, Шарковщинском, Глубокском районах, суммы фенольных метаболитов были максимальными, а в образцах, заготовленных в г. Минске, Дзержинском и Житковичском районах, – минимальными.

Исследование также показало, что распределение фенольных соединений, как и ожидалось, является органоспецифичным. На примере образцов *B. frondosus*, собранных в Любанском районе, можно отметить, что максимальным содержанием фенольных соединений и флавоноидов характеризуются листья –  $212,76 \pm 2,697$  и  $34,22 \pm 2,584$  мг/г сухой массы соответственно. В соцветиях сумма соединений фенольной природы составила  $125,84 \pm 2,985$  мг/г сухой массы, а доля флавоноидов в данной части растения – 14 % от общей суммы фенольных соединений ( $17,05 \pm 1,296$  мг/г сухой массы). В стеблях выявлено низкое содержание сумм фенольных метаболитов и флавоноидов –  $39,91 \pm 0,604$ ,  $5,02 \pm 0,316$  мг/г сухой массы соответственно. В корнях содержание фенольных соединений было минимальным –  $24,98 \pm 0,565$  мг/г сухой массы. Содержание сумм флавоноидов в подземной части исследованного варианта было ниже предела определения, хотя в корнях некоторых образцов достигало 2–2,9 мг/г сухой массы (табл. 1–3).

Как в *B. frondosus*, в растениях *B. connatus* максимальное содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов отмечено в листьях –  $187,27 \pm 5,182$  и  $22,09 \pm 0,829$  мг/г сухой массы соответственно (Шарковщинский район). Несколько меньше соединений фенольной природы в соцветиях –  $168,70 \pm 4,341$  мг/г сухой массы. Количество флавоноидов в соцветиях составило  $19,45 \pm 1,160$  мг/г сухой массы. В стеблях накопление фенольных соединений было минимальным –  $44,05 \pm 1,934$  мг/г сухой массы (табл. 2).

Результаты исследований показали, что у аборигенного вида череды максимальное количество фенольных соединений и флавоноидов находилось также в листьях –  $183,22 \pm 1,893$  и  $32,29 \pm 4,991$  мг/г сухой массы соответственно (образец череды трехраздельной, собранной в Житковичском районе). В соцветиях их содержание составило  $90,58 \pm 1,485$  и  $12,50 \pm 0,914$  мг/г

сухой массы соответственно. В стеблях зафиксировано минимальное содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов –  $43,69 \pm 0,868$  и  $6,02 \pm 0,325$  мг/г сухой массы соответственно. В корнях количество флавоноидов составило  $2,06 \pm 0,722$  мг/г сухой массы (максимальное содержание – в образце из Борисовского района) либо было ниже предела определения (табл. 3).

Необходимо отметить, что в некоторых случаях содержание фенольных соединений в соцветиях было больше, чем в листьях, что можно наблюдать в образцах *B. frondosus*, собранной в г. Минске (табл. 1), *B. connatus* из Вилейского (табл. 2) и *B. tripartitus* из Борисовского района (табл. 3).

Таблица 1. Содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов в траве и различных органах *B. frondosus*, мг/г сухой массы

Table 1. Total phenolic compounds and flavonoids accumulation in the air parts and different organs of *B. frondosus*, mg/g dry weight

Объект	Любанский р-н		Солигорский р-н		г. Минск	
	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов
Листья	$212,76 \pm 2,697$	$34,22 \pm 2,584$	$172,59 \pm 2,032$	$23,56 \pm 0,608$	$59,90 \pm 1,374$	$6,82 \pm 0,688$
Соцветия	$125,84 \pm 2,985$	$17,05 \pm 1,296$	$138,64 \pm 1,862$	$15,12 \pm 0,692$	$75,82 \pm 1,310$	$5,90 \pm 0,696$
Стебли	$39,91 \pm 0,604$	$5,02 \pm 0,316$	$38,55 \pm 0,927$	$4,87 \pm 0,252$	$23,84 \pm 0,295$	$1,88 \pm 0,280$
Корни	$24,98 \pm 0,565$	–	$12,25 \pm 0,218$	–	$13,99 \pm 0,344$	$1,05 \pm 0,660$
Трава	$156,52 \pm 0,806$	$19,13 \pm 1,628$	$138,95 \pm 1,673$	$17,39 \pm 0,492$	$60,41 \pm 1,348$	$7,33 \pm 0,616$

Примечание. Здесь и в табл. 3 прочерк означает, что содержание флавоноидов ниже предела определения.

Таблица 2. Содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов в траве и различных органах *B. connatus*, мг/г сухой массы

Table 2. Total phenolic compounds and flavonoids accumulation in the air parts and different organs of *B. connatus*, mg/g dry weight

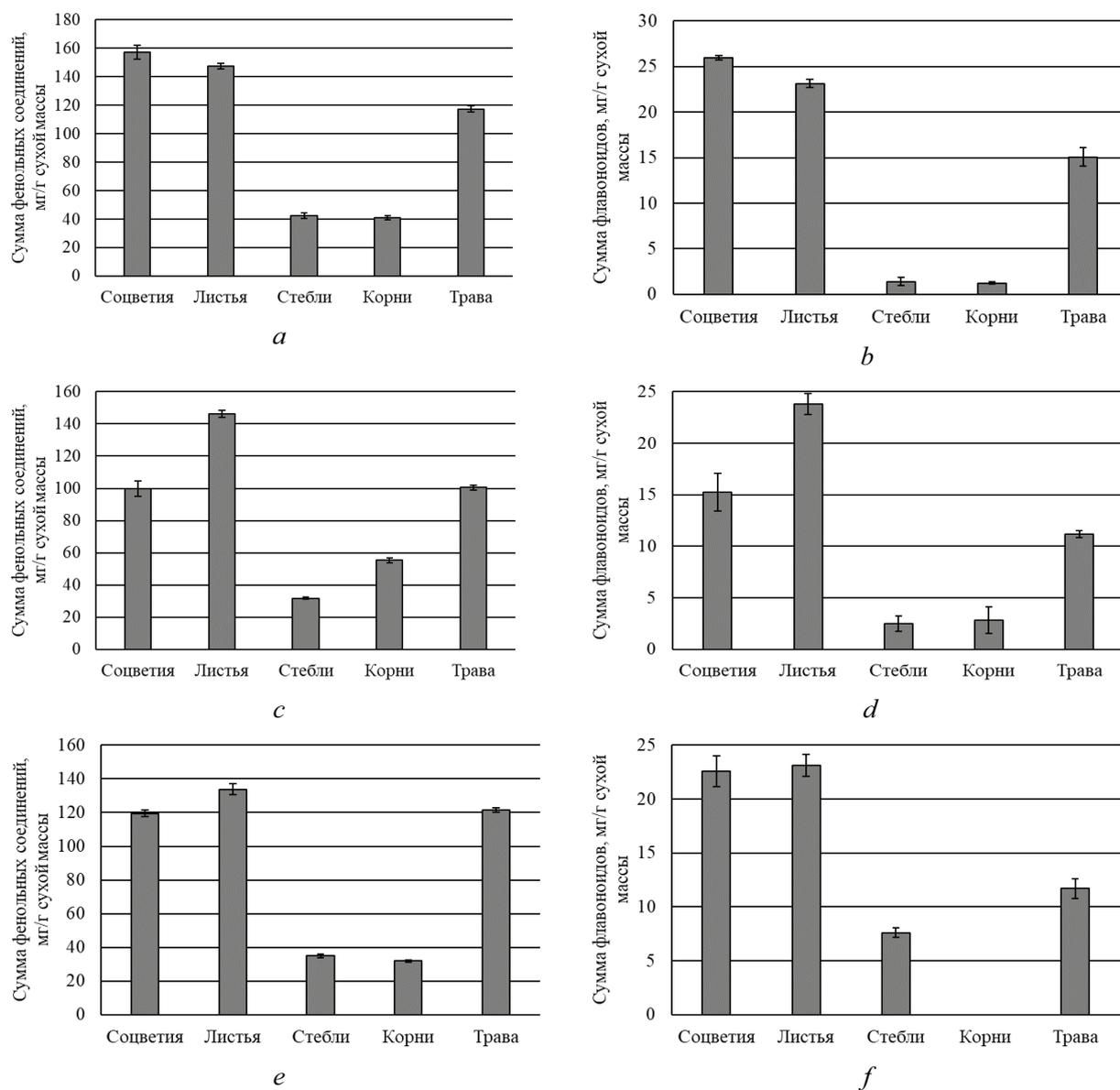
Объект	Шарковщинский р-н		Вилейский р-н		Дзержинский р-н	
	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов
Листья	$187,27 \pm 5,182$	$22,09 \pm 0,829$	$108,04 \pm 3,680$	$16,29 \pm 1,745$	$84,35 \pm 1,635$	$14,40 \pm 0,527$
Соцветия	$168,70 \pm 4,341$	$19,45 \pm 1,160$	$117,00 \pm 0,158$	$14,16 \pm 0,259$	$68,43 \pm 1,103$	$11,47 \pm 0,233$
Стебли	$44,05 \pm 1,934$	$4,28 \pm 0,339$	$21,517 \pm 0,378$	$2,56 \pm 0,230$	$11,73 \pm 1,651$	$1,92 \pm 0,532$
Корни	$54,01 \pm 2,916$	$2,09 \pm 0,497$	$24,59 \pm 0,257$	$0,38 \pm 0,171$	$23,20 \pm 0,903$	$2,86 \pm 0,496$
Трава	$129,24 \pm 0,660$	$14,74 \pm 1,108$	$89,74 \pm 3,835$	$12,00 \pm 1,334$	$54,86 \pm 2,009$	$11,22 \pm 0,281$

Таблица 3. Содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов в траве и различных органах *B. tripartitus*, мг/г сухой массы

Table 3. Total phenolic compounds and flavonoids accumulation in the air parts and different organs of *B. tripartitus*, mg/g dry weight

Объект	Глубокский р-н		Борисовский р-н		Житковичский р-н	
	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов	Сумма фенольных соединений	Сумма флавоноидов
Листья	$123,80 \pm 1,085$	$12,64 \pm 1,197$	$138,88 \pm 3,676$	$27,98 \pm 1,528$	$183,22 \pm 1,893$	$32,29 \pm 4,991$
Соцветия	$101,20 \pm 0,662$	$7,10 \pm 1,054$	$140,30 \pm 1,912$	$26,72 \pm 2,348$	$90,58 \pm 1,485$	$12,50 \pm 0,914$
Стебли	$32,82 \pm 0,433$	–	$40,23 \pm 0,718$	$7,58 \pm 1,066$	$43,69 \pm 0,868$	$6,02 \pm 0,325$
Корни	$47,93 \pm 0,573$	–	$26,22 \pm 0,498$	$2,06 \pm 0,722$	$55,83 \pm 0,895$	–
Трава	$112,9 \pm 1,150$	$7,98 \pm 1,059$	$107,47 \pm 2,048$	$18,56 \pm 0,428$	$91,35 \pm 1,674$	$13,50 \pm 0,676$

Из данных табл. 1 видно, что сумма фенольных соединений в траве *B. frondosus* варьировалась от  $60,41 \pm 1,348$  (г. Минск) до  $156,52 \pm 0,806$  мг/г сухой массы (Любанский р-н). В образце, собранном в Солигорском районе, сумма соединений фенольной природы составила  $138,95 \pm 1,673$  мг/г сухой массы. Доля флавоноидов в общей сумме фенольных соединений в траве череды олиственной была равна примерно 12 % (от  $7,33 \pm 0,616$  до  $19,13 \pm 1,628$  мг/г сухой массы).



Суммы фенольных соединений (a, c, e) и флавоноидов (b, d, f) в экстрактах *B. frondosus* (a, b), *B. connatus* (c, d), *B. tripartitus* (e, f), собранных в д. Лапичи Осиповичского района Могилевской области

Total phenolic compounds (a, c, e) and flavonoids (b, d, f) accumulation in extracts of *B. frondosus* (a, b), *B. connatus* (c, d), *B. tripartitus* (e, f), collected in village Lapichi, Osipovichsky district, Mogilev

Максимальное содержание фенольных соединений и флавоноидов в траве *B. connatus* было отмечено в образце, собранном в Шарковщинском районе, –  $129,24 \pm 0,660$  и  $14,74 \pm 1,108$  мг/г сухой массы соответственно (табл. 2). Минимальное – в траве, заготовленной в Дзержинском районе, –  $54,86 \pm 2,009$  мг/г сухой массы. Сумма флавоноидов в траве данного образца составила  $11,22 \pm 0,281$  мг/г сухой массы.

Сумма фенольных соединений в траве *B. tripartitus* варьировалась от  $91,35 \pm 1,674$  (Житковичский район) до  $112,9 \pm 1,150$  мг/г сухой массы (Глубокский район). Количество флавоноидов в общей сумме фенольных соединений в траве череды трехраздельной находилось в пределах от  $7,98 \pm 1,059$  до  $18,56 \pm 0,428$  мг/г сухой массы (табл. 3).

Таким образом, как и следовало ожидать, содержание фенольных соединений и флавоноидов в траве и различных органах растений всех исследованных видов череды значительно изменяется в зависимости от места сбора образцов. Уровни содержания фенольных метаболитов различаются в 3,5 раза и более. Согласно результатам наших исследований, череда олиственная и череда сrost-

ная характеризовались бoльшим диапазоном варьирования суммы фенольных соединений в зависимости от условий произрастания по сравнению с данным показателем у череды трехраздельной.

Различия в содержании исследованных соединений часто определяются условиями произрастания: структурой, минеральным составом и влажностью почвы, освещенностью, температурным режимом и другими факторами. Например, по данным [17, 18], УФ-облучение на фоне засухи повышает в растениях секрецию флавоноидов. J. P. Bryant и M. Keinänen [19, 20] установили, что на содержание соединений фенольной природы влияет плодородие почв. Так, в растениях, произрастающих на обедненной азотом почве, наблюдалось увеличение данного показателя по сравнению с таковым в почвах, богатых этим элементом. Также имеются сведения, что при усилении пастбищной нагрузки изменяются условия произрастания растений, обусловленные увеличением доступа солнечного света к поверхности почвы, что также способствует повышению содержания фенольных соединений в листьях [21].

В ходе мониторинга распространения инвазивных видов череды были выявлены географически близкие локалитеты произрастания *B. frondosus*, *B. connatus* и *B. tripartitus*, например в д. Лапичи Осиповичского района Могилевской области. Анализ данного сырья *B. frondosus* показал, что в траве сумма фенольных соединений и флавоноидов составляла  $117,40 \pm 2,123$  и  $15,065 \pm 1,028$  мг/г сухой массы соответственно (см. рисунок, *a, b*). Максимальное количество компонентов фенольной природы находилось в соцветиях –  $157,19 \pm 4,790$  (сумма фенольных соединений) и  $25,96 \pm 0,260$  (сумма флавоноидов) мг/г сухой массы. В листьях эти показатели составили  $147,57 \pm 1,931$  и  $23,14 \pm 0,461$  мг/г сухой массы соответственно. В стеблях и корнях содержание фенольных соединений было минимальным.

В траве череды сростной, собранной в Осиповичском районе (см. рисунок, *c, d*), содержание суммы фенольных соединений и флавоноидов составило  $100,56 \pm 1,412$  и  $11,16 \pm 0,345$  мг/г сухой массы соответственно. Максимальное накопление было отмечено в листьях ( $146,35 \pm 2,247$  и  $23,78 \pm 1,010$  мг/г сухой массы соответственно). Минимальное содержание веществ фенольной природы наблюдалось в стеблях.

В траве аборигенного вида, череды трехраздельной, содержалось  $121,67 \pm 1,355$  мг/г сухой массы фенольных соединений и  $11,71 \pm 0,934$  мг/г сухой массы флавоноидов (см. рисунок, *e, f*). Максимальное содержание метаболитов в данных образцах отмечено в листьях –  $133,87 \pm 3,392$  (сумма фенольных соединений) и  $23,12 \pm 1,046$  (сумма флавоноидов) мг/г сухой массы. В корнях сумма фенольных соединений была минимальной, а количество флавоноидов было ниже уровня определения.

Таким образом, череда олиственная, череда сростная и череда трехраздельная, произрастающие в географически близких локалитетах, обладают сходными суммами фенольных соединений и флавоноидов.

**Заключение.** Установлено, что содержание фенольных соединений и флавоноидов в траве и различных органах растений всех исследованных видов череды (инвазивные виды – череда олиственная и череда сростная, аборигенный вид – череда трехраздельная), произрастающих на территории Беларуси, варьировалось в зависимости от условий произрастания. Уровни содержания фенольных метаболитов различались в 3,5 раза и более. Согласно результатам наших исследований, череда олиственная и череда сростная характеризовались бoльшим диапазоном варьирования суммы фенольных соединений в зависимости от условий произрастания, чем у череды трехраздельной. Так, сумма фенольных соединений и флавоноидов в траве *B. frondosus* отличалась в 2,6 и 2,7 раза соответственно, сумма метаболитов фенольной природы в траве растений *B. connatus* – в 2,3 раза, а сумма флавоноидов – в 1,3 раза. Сумма фенольных соединений в траве *B. tripartitus* в зависимости от условий произрастания отличалась в 1,2 раза, а сумма флавоноидов – в 2,3 раза.

Сравнительный анализ сумм фенольных соединений и флавоноидов в растениях череды, собранных в географически близких локалитетах, показал сходство данных параметров в инвазивных видах череды – череде олиственной и череде сростной, а также в аборигенном представителе данного вида – череде трехраздельной. Таким образом, чужеродные виды череды, собранные в определенных локалитетах, могут быть источником хозяйственно ценных фенольных соединений и флавоноидов. Заготовка инвазивных видов череды *B. frondosus* и *B. connatus* позволит регулировать их распространение на территории Беларуси и предотвратить вытеснение аборигенного вида череды *B. tripartitus*, минимизируя их негативное влияние на экологические системы.

**Благодарности.** Результаты были получены в рамках проекта «Разработать способы использования инвазивных представителей родов Череда и Золотарник как потенциального биологического ресурса с целью снижения их численности и ограничения дальнейшего распространения в природных фитоценозах» (научные руководители О. В. Молчан, В. И. Домаш, 2016–2020 гг., ОНТП «Интродукция, озеленение, экобезопасность», подпрограмма «Противодействие экспансии чужеродных видов, организмов и патогенов, минимизация ущерба для природного разнообразия, экономики и здоровья человека») при поддержке Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды.

Авторы выражают благодарность канд. биол. наук, доценту кафедры ботаники биологического факультета БГУ Максиму Анатольевичу Джусу за помощь в сборе и идентификации растений.

**Acknowledgements.** The results were obtained in the project «To develop methods for using the invasive *Bidens* and *Solidago* species as a potential biological resource in order to reduce their distribution in natural phytocenoses». (principal investigator O. V. Molchan, V. I. Domash, 2016–2020, Programme “Introduction, gardening, environmental safety”, subprogramme “Countering the expansion of alien species, organisms and pathogens, minimization of damage to natural diversity, the economy and human health”) with the support of the Ministry of Natural Resources and Environmental Protection of Republic of Belarus.

The authors are grateful to the Assistant Professor of the Department of Botany of the Biological Faculty of the Belarusian State University, Ph. D., Maxim Anatolyevich Dzhus for his help in collecting and identifying plants.

### Список использованных источников

1. Strother, J. L. *Bidens* L. / J. L. Strother, R. R. Weedon // Flora of North America North of Mexico. – New York, Oxford, 2006. – Vol. 21: Magnoliophyta: Asteridae, Part 8: Asteraceae, Part 3. – P. 205.
2. Джус, М. А. Род *Bidens* L. (Asteraceae) во флоре Белоруссии / М. А. Джус // Материалы I (IX) Междунар. конф. молод. ботаников в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 21–26 мая 2006 г.). – СПб., 2006. – С. 49–50.
3. Alien flora of Europe: species diversity, temporal trends, geographical patterns and research needs / P. W. Lambdon [et al.] // Preslia. – 2008. – Vol. 80, N 2. – P. 101–149.
4. Васильева, Н. В. Механизмы воздействия инвазивной *Bidens frondosa* L. на аборигенные виды череды / Н. В. Васильева, В. Г. Папченков // Рос. журн. биол. инвазий. – 2011. – Т. 4, № 1. – С. 15–22.
5. Ронжина, Д. А. Распространение, конкурентоспособность и семенная продуктивность *Bidens frondosa* на Среднем Урале / Д. А. Ронжина // Рос. журн. биол. инвазий. – 2017. – Т. 10, № 3. – С. 68–79.
6. Джус, М. А. Череда сростная (*Bidens connata* Muehl. ex Willd., Asteraceae) инвазивный вид во флоре Беларуси / М. А. Джус // Биологическое разнообразие Белорусского Поозерья: современное состояние, проблемы использования и охраны : материалы II Междунар. науч.-практ. конф. (Витебск, 19–21 ноября 2008 г.) / Витеб. гос. ун-т ; редкол. : А. М. Дорофеев (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 89–91.
7. Савицкая, К. Л. Новые местонахождения водных и околоводных растений в центральной части подзоны борельных ландшафтов Беларуси / К. Л. Савицкая, М. А. Джус, И. М. Степанович // Вестн. БГУ. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2013. – № 2. – С. 52–57.
8. Джус, М. А. Инвазивные американские виды череды (*Bidens* L., Asteraceae) в национальных парках и заповедниках Беларуси / М. А. Джус // Заповедное дело в Республике Беларусь: итоги и перспективы : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию Березинского заповедника (п. Домжерицы, 22–25 сентября 2010 г.) / редкол. : В. С. Ивкович (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2010. – С. 153–156.
9. Государственная фармакопея Республики Беларусь : в 3 т. / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск : МГПТК полиграфии, 2007. – Т. 2. – 471 с.
10. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование: в 9 т. – СПб. : Наука, 1984–1996. – Т. 7: Семейство Asteraceae (Compositae). – 1993. – С. 76–79.
11. Государственная фармакопея Республики Беларусь: (ГФ РБ II) : в 2 т. – Т. 2 : Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Респ. УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» ; под общ. ред. С. И. Марченко. – 2-е изд. – Молодечно : Победа, 2016. – 1368 с.
12. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 272 с.
13. Вольнец, А. П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений / А. П. Вольнец. – Минск : Беларуская навука, 2013. – 283 с.
14. Виноградова, Ю. К. Ресурсный потенциал инвазивных видов растений / Ю. К. Виноградова, А. Г. Куклина. – М. : Геос, 2012. – 185 с.
15. Folin, O. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins / O. Folin, V. Ciocalteu // J. Biol. Chem. – 1927. – Vol. 73, N 2. – P. 627–650.
16. Беликов, В. В. Методы анализа флавоноидных соединений / В. В. Беликов, М. С. Шрайбер // Фармация. – 1970. – № 1. – С. 66–72.
17. Chaves, N. Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudate / N. Chaves, J. C. Escuredo, C. Gutierrez-Merino // J. Chem. Ecol. – 1987. – Vol. 23, N 3. – P. 579–603. <https://doi.org/10.1023/b:joec.0000006398.79306.09>

18. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries / S. Spayd [et al.] // *Am. J. Enol. Vitic.* – 2002. – Vol. 53. – P. 171–182.
19. Bryant, J. P. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory / J. P. Bryant, F. S. Chapin, D. R. Klein // *Oikos.* – 1983. – Vol. 40, N 3. – P. 357–368. <https://doi.org/10.2307/3544308>
20. Trade-offs in phenolic metabolism of silver birch: effects of fertilization, defoliation, and genotype / M. Keinänen [et al.] // *Ecology.* – 1999. – Vol. 80, N 6. – P. 1970–1986. <https://doi.org/10.2307/176672>
21. Бускунова, Г. Г. Экологические и биохимические особенности *Achillea nobilis* L. в условиях степной зоны Южного Урала : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / Г. Г. Бускунова ; Ин-т биологии Уфим. науч. центра РАН. – Уфа, 2009. – 22 с.

## References

1. Strother J. L., Weedon R. R. *Bidens* L. *Flora of North America North of Mexico. Vol. 21: Magnoliophyta: Asteridae, Part 8: Asteraceae, Part 3.* New York, Oxford, 2006, p. 205.
2. Dzhus M. A. Genus *Bidens* L. (Asteraceae) in the flora of Belarus. *Materialy I (IX) Mezhdunarodnoi konferentsii molodykh botanikov v Sankt-Peterburge (Sankt-Peterburg, 21–26 maya 2006 goda)* [Materials of the I (IX) International conference of young botanists in St. Petersburg (St. Petersburg, May 21–26, 2006)]. St. Petersburg, 2006, pp. 49–50 (in Russian).
3. Lambdon P. W., Pyšek P., Basnou C., Hejda M., Arianoutsou M., Essl F. [et al.]. Alien flora of Europe: species diversity, temporal trends, geographical patterns and research needs. *Preslia*, 2008, vol. 80, no. 2, pp. 101–149.
4. Vasil'eva N. V., Papchenkov V. G. Mechanisms of the impact of invasive *Bidens frondosa* L. on the aboriginal species of the Bidens. *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii = Russian journal of biological invasions*, 2011, vol. 4, no. 1, pp. 15–22 (in Russian).
5. Ronzhina D. A. Distribution, competitiveness and seed productivity of *Bidens frondosa* in the Middle Urals. *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii = Russian journal of biological invasions*, 2017, vol. 10, no. 3, pp. 68–79 (in Russian).
6. Dzhus M. A., *Bidens connata* (*Bidens connata* Muehl. Ex Willd., Asteraceae) invasive species in the flora of Belarus. *Biologicheskoe raznoobrazie Belorusskogo Poozer'ya: sovremennoe sostoyanie, problemy ispol'zovaniya i okhrany: materialy II Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 19–21 noyabrya 2008 goda)* [The biological diversity of the Belarusian Lake District: current status, problems of use and protection: materials of the II International scientific and practical conference (Vitebsk, November 19–21, 2008)]. Vitebsk, 2008, pp. 89–91 (in Russian).
7. Savitskaya K. L., Dzhus M. A., Stepanovich I. M. New locations of aquatic and near-water plants in the central part of the subzone of the boreal landscapes of Belarus. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2, Chemistry. Biology. Geography], 2013, no. 2, pp. 52–57 (in Russian).
8. Dzhus M. A. Invasive American species of the series (*Bidens* L., Asteraceae) in the national parks and reserves of Belarus. *Zapovednoe delo v Respublike Belarus': itogi i perspektivy: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 85-letiyu Berezinskogo biosfernogo zapovednika (22–25 sentyabrya 2010, g. p. Domzheritsy)* [Nature reserve in the Republic of Belarus: results and prospects: materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 85th anniversary of the Berezinsky Biosphere Reserve (September 22–25, 2010, Domzheritsy settlement)]. Minsk, 2010, pp. 153–156 (in Russian).
9. Sheryakov A. A. (ed.) *The State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. Vol 2.* Minsk, Minsk State Vocational College of Printing, 2007. 471 p. (in Russian).
10. *Plant resources of the USSR: flowering plants, their chemical composition, use: in 9 vol.* Sankt Petersburg, 1996. Vol. 7: The Asteraceae Family (Compositae), 1993, pp. 76–79 (in Russian).
11. Marchenko S. I. (ed.) *The State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: (State Pharmacopoeia of Belarus II). Vol. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal plant materials. 2nd ed.* Molodechno, Tipografiya "Pobeda" Publ., 2016. 1368 p. (in Russian).
12. Zaprometov M. N. *Phenolic compounds: distribution, metabolism and functions in plants.* Moscow, Nauka Publ., 1993. 272 p. (in Russian).
13. Volynets A. P. *Phenolic compounds in the life of plants.* Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2013. 283 p. (in Russian).
14. Vinogradova Yu. K., Kuklina A. G. *Resource potential of invasive plant species.* Moscow, Geos Publ., 2012. 185 p. (in Russian).
15. Folin O. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 1927, vol. 73, no. 2, pp. 627–650.
16. Belikov V. V., Shraiber M. S. Methods of analysis of flavonoid compounds. *Farmatsiya* [Pharmacy], 1970, no. 1, pp. 66–72 (in Russian).
17. Chaves N., Escuredo J. C., Gutierrez-Merino C. Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudate. *Journal of Chemical Ecology*, 1987, vol. 23, no. 3, pp. 579–603. <https://doi.org/10.1023/b:joec.0000006398.79306.09>
18. Spayd S. E., Tarara J. M., Mee D. L., Ferguson J. C. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2002, vol. 53, pp. 171–182.

19. Bryant J. P., Chapin F. S., Klein D. R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 1983, vol. 40, no. 3, pp. 357–368. <https://doi.org/10.2307/3544308>

20. Keinänen M., Julkunen-Tiitto R., Mutikainen P., Walls M., Ovaska J., Vapaavuori E. Trade-offs in phenolic metabolism of silver birch: effects of fertilization, defoliation, and genotype. *Ecology*, 1999, vol. 80, pp. 1970–1986. <https://doi.org/10.2307/176672>

21. Buskunova G. G. *Ecological and biochemical features of Achillea nobilis L. in the steppe zone of the Southern Urals*. Abstract of Ph. D. diss. Ufa, 2009. 22 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Скуратович Татьяна Александровна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [tskuratovich@yandex.ru](mailto:tskuratovich@yandex.ru)

*Молчан Ольга Викторовна* – канд. биол. наук, доцент. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [olga\\_molchan@mail.ru](mailto:olga_molchan@mail.ru)

### Information about the authors

*Tatyana A. Skuratovich* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [tskuratovich@yandex.ru](mailto:tskuratovich@yandex.ru)

*Olga V. Molchan* – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor. 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: [olga\\_molchan@mail.ru](mailto:olga_molchan@mail.ru)

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 633.161:58.036.1:577.355

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-153-162>

Поступила в редакцию 10.10.2019

Received 10.10.2019

Н. Л. Пшибытко<sup>1</sup>, Т. С. Бачище<sup>2</sup>, Л. Ф. Кабашникова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНОВ В ХЛОРОПЛАСТАХ ЯЧМЕНЯ

**Аннотация.** С использованием метода РАМ-флуориметрии оценена эффективность функционирования переносчиков электронов в тилакоидных мембранах необработанных и подвергшихся тепловому воздействию 7-дневных проростков ячменя. Исследованы переходные состояния темнота–свет в хлоропластах после теплового воздействия. Выявлены термоиндуцированные изменения протекания линейного и циклического транспорта электронов в хлоропластах. Показана активация НАД(Ф)Н-зависимого электронного потока после воздействия повышенной температуры. Высказано предположение о регуляторной роли  $\Delta pH$  тилакоидных мембран в распределении потоков электронов и адаптации фотосинтетического аппарата к стрессовым воздействиям.

**Ключевые слова:** фотосинтетический аппарат, фотосистема 2, электронные потоки в хлоропластах, альтернативный транспорт электронов, НАД(Ф)Н-оксидаза, тепловой шок, РАМ-флуориметрия

**Для цитирования:** Пшибытко, Н. Л. Влияние повышенной температуры на перенос электронов в хлоропластах ячменя / Н. Л. Пшибытко, Т. С. Бачище, Л. Ф. Кабашникова // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 65, № 2. – С. 153–162. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-153-162>

Natallia L. Pshybytko<sup>1</sup>, Tatsiana S. Bachyshcha<sup>2</sup>, Liudmila F. Kabashnikova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## INFLUENCE OF ELEVATED TEMPERATURE ON ELECTRON FLOWS IN CHLOROPLASTS OF BARLEY

**Abstract.** The efficiency of electron carriers in thylakoid membranes untreated and exposed to heat 7-day-old barley seedlings was evaluated with PAM fluorescence. Darkness–light transitional states in chloroplasts after heat exposure are studied. Thermoinduced changes in linear and cyclic electron transport chain of chloroplasts are revealed. The activation of NADPH-dependent electron flux after exposure to elevated temperatures is shown. We assumed that  $\Delta pH$  of thylakoid membranes employed the regulatory role in the distribution of electron flows and the adaptation of the photosynthetic apparatus to stressful effects.

**Keywords:** photosynthetic apparatus, photosystem II, electron flows in chloroplasts, alternative electron transport, NADPH-oxidase, heat shock, PAM-fluorescence

**For citation:** Pshybytko N. L., Bachyshcha T. S., Kabashnikova L. F. Influence of elevated temperature on electron flows in chloroplasts of barley. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 153–162 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-153-162>

**Введение.** Неотъемлемым свойством живого организма является его способность реагировать на любые изменения внешних условий. Способность адаптироваться к воздействию тех или иных факторов определяет выживаемость и продуктивность растений. К адаптационным механизмам относятся изменение экспрессии генов, содержания микро- и макромолекул в клетках, нарушение клеточного метаболизма и др. [1, 2]. Известно, что воздействие повышенных температур приводит к значительному изменению водного баланса растений, оказывает влияние на протекание биохимических и физиологических процессов, структуру мембран, ультраструктуру субклеточных органелл, нарушает процессы фотосинтеза [3]. Наибольшей чувствительностью

к повреждающим воздействиям отличается световая стадия фотосинтеза [4]. Природа этой стрессочувствительности определяется как сложным строением пигмент-белковых комплексов тилакоидных мембран, так и тонкими механизмами регуляции электронных потоков в хлоропластах, редокс-регуляцией и метаболической регуляцией.

В фотосинтетическом аппарате существует сложная система регуляции фотосинтетических реакций, препятствующая развитию свободнорадикальных процессов и повреждению тилакоидных мембран. Особенно отчетливо данные механизмы проявляются при переходе фотосинтетического аппарата из состояния полной адаптации к темноте к состоянию адаптации к свету [5]. При освещении адаптированных к темноте хлоропластов, в которых реакционные центры фотосистем (ФС) «открыты», энергия электронного возбуждения поглотивших кванты света молекул пигментов-светосборщиков передается в реакционный центр ФС2, где происходит разделение зарядов, а поглотивший два электрона пластохинон присоединяет два протона, отделяется от пигмент-белкового комплекса ФС2 и может диффундировать в липидном бислое к цитохром- $b_6/f$  комплексу. В то же время в ФС1 происходит фотоиндуцированное разделение зарядов в реакционном центре, окисление пластоцианина, восстановление ферредоксина. Пластоцианин переносит окислительный эквивалент к цитохром- $b_6/f$  комплексу, после чего посредством окисленных Fe-S-центра Риске и цитохрома  $f$  гидрохинон превращается в семихинон, а цитохром  $b$  участвует в превращении семихинона в хинон. Поскольку реакции разделения зарядов и окисления первичных и вторичных акцепторов происходят за пико-наносекунды, а перенос электронов подвижными переносчиками осуществляется на несколько порядков медленнее, то последний процесс может рассматриваться как процесс, который лимитирует и регулирует работу электрон-транспортной цепи хлоропластов (ΔpH-зависимая регуляция).

Координация работы обеих фотосистем осуществляется через фосфорилирование светособирающего комплекса ФС2 (ССК2) [6]. В темноте (состояние 1) мобильный тример ССК2 ассоциирован с ФС2. При освещении происходит перевосстановление пула пластохинонов и цитохромов  $b_6/f$ -комплекса, что активирует протеинкиназу, фосфорилирующую мобильный тример. В результате фосфорилирования поверхность ССК2 приобретает отрицательный заряд, что приводит к его диссоциации от ФС2. Фосфорилированный мобильный тример может присоединяться к ФС1. Состояние, при котором мобильный тример ассоциирован с ФС1, называется состоянием 2. При окислении пластохинонов происходит обратная реакция дефосфорилирования ССК2 протеинфосфотазой, возвращение его в район стекованных мембран гран и увеличение притока энергии к ФС2, что сопровождается переключением системы из состояния 2 в состояние 1 [6, 7]. В результате перехода из состояния 1 в состояние 2 энергия излучения перенаправляется от ФС2 к ФС1, которая более эффективно осуществляет циклический поток электронов.

Светозависимая регуляция активности АТФ-синтазы происходит по принципу редокс-регуляции. Восстановленные молекулы ферредоксина служат донорами электронов для тиоредоксина, который в свою очередь восстанавливает дисульфидные мостики субъединицы  $g$ , в результате чего фермент переходит в активное состояние. В темноте АТФсинтаза дезактивируется [8, 9].

Взаиморегуляция темновой и световой стадий фотосинтеза осуществляется через продукты фотохимической стадии фотосинтеза – АТФ + НАДФН, необходимые для ассимиляции углерода, и посредством редокс-регуляции ферментов. Активность ключевого фермента цикла Кальвина–Бенсона – рибулозодифосфат-карбоксилазы (РБФК) – контролируется состоянием ее тиоловых групп [8, 10]. В темноте, когда тиоловые группы окислены ( $-S-S-$ мостики), РБФК находится в неактивном состоянии. При освещении хлоропластов РБФК переходит в активное состояние, при котором тиоловые группы восстанавливаются ( $-SH$ ) с участием тиоредоксина. В хлоропластах тиоредоксин в свою очередь восстанавливается посредством ферредоксин-тиоредоксинредуктазы, принимая два электрона от двух восстановленных молекул ферредоксина. Активации РБФК способствуют также другие факторы: изменение рН и содержания ионов  $Mg^{2+}$  в строме хлоропластов, что наблюдается при освещении листа.

Цель данной работы – исследование механизмов регуляции потоков электронов в хлоропластах при умеренном тепловом воздействии, не приводящем к некрозу тканей и гибели растения.

**Объекты и методы исследования.** В качестве объектов исследования использовали 7-дневные проростки ячменя сорта Гонар. Зеленые проростки выращивали, используя специальные сетки, в лабораторных условиях на слое фильтровальной бумаги, увлажненной водопроводной водой. Для исследований использовали первый лист проростков. Тепловую обработку растений проводили в воздушном термостате ТС-80М-2 в течение 3 ч при 40 °С и постоянном освещении (120 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>).

Флуоресценцию хлорофилла *a* регистрировали на флуориметре Dual-PAM-100 (Walz, Германия). Перед измерением листья адаптировали к темноте в течение 15 мин. Модулированный с низкой частотой (32 Гц) слабый свет (650 нм, 0,04 мкмоль квантов м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>) возбуждал фоновую флуоресценцию ( $F_0$ ), а световой импульс ( $\lambda = 665$  нм) высокой интенсивности (3500 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>) увеличивал квантовый выход флуоресценции до уровня  $F_m$ .

На основании кинетики флуоресценции хлорофилла *a*, измеренной при комнатной температуре с применением периодических коротких насыщающих импульсов на фоне актиничного света интенсивностью 120 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, были рассчитаны следующие показатели [11, 12]: потенциальный квантовый выход фотохимических реакций: ФС2  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ ; эффективный квантовый выход фотохимических реакций ФС2:  $\Phi_{\text{ФС2}} = (F'_m - F'_p)/F'_m$ ; скорость транспорта электронов:  $\text{ETR2} = \text{PAR} \cdot \Phi_{\text{ФС2}} / (F_v/F_m)$ ; фотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла *a*:  $qP = (F'_m - F'_p)/(F'_m - F_0)$ ; нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла *a*:  $qN = (F'_m - F_0)/F'_m$ , где  $F_0$  – минимальный квантовый выход флуоресценции адаптированного к темноте образца после включения света низкой интенсивности;  $F_m$  – максимальный квантовый выход флуоресценции образца, предварительно инкубированного в темноте, после вспышки насыщающего света;  $F'_m$  – максимальный квантовый выход флуоресценции, регистрируемый после применения вспышки насыщающего света на фоне действия актиничного света;  $F'_0$  – квантовый выход флуоресценции, измеряемый на фоне действия света низкой интенсивности после вспышки насыщающего света; PAR – фотосинтетически активная радиация.

Выделение хлоропластов второго класса осуществляли по методу, приведенному в работе [13]. Среда выделения включала холодный 0,05 М Трис-НСІ буфер (рН 8,0) с добавлением 0,4 М сахарозы, 10 мМ NaCl, 2 мМ ЭДТА, 15 мМ БСА или 50 мМ Трис-НСІ буфер (рН 8,0) с добавлением 0,35 М NaCl.

Скорость нециклического и циклического фотофосфорилирования определяли по методу [14], основанному на измерении количества неорганического фосфора в реакционной смеси до и после освещения. При определении скорости циклического фотофосфорилирования использовали реакционную смесь, содержащую 15 мМ Трис-НСІ буфер (рН 7,8), 20 мМ NaCl, 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, 3 мМ АДФ, 3 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 30 мкМ феназинметасульфат и суспензию хлоропластов, эквивалентную 0,1 мг хлорофилла (*a* + *b*). Для определения скорости нециклического фотофосфорилирования, сопряженного с восстановлением феррицианида, использовали реакционную смесь, содержащую 15 мМ Трис-НСІ буфер (рН 7,8), 20 мМ NaCl, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ АДФ, 4 мМ KN<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 мМ K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> и суспензию хлоропластов, концентрация которой была эквивалентна 0,1 мг хлорофилла (*a* + *b*). Реакционную смесь освещали в течение 5 мин при температуре 18–20 °С светом с интенсивностью 400 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Реакцию останавливали выключением света и добавлением в реакционную смесь трихлоруксусной кислоты до конечной концентрации 2 % и СН<sub>3</sub>COONa до конечной концентрации 0,2 М. Содержание неорганического фосфора в пробах определяли методом Лоури [15]. Показателем фосфорилирующей активности хлоропластов служила убыль неорганического фосфора за время инкубации.

Активность НАДФН-оксидазы определяли, согласно приведенному в работе [16] методу, по окислению НАДФН. Реакцию проводили в реакционной смеси, содержащей 50 мМ НЕРЕС-КОН (рН 7,8), 0,1 мМ ЭДТА, 1 мкМ KCN и 100 мкМ НАДФН. Скорость окисления НАДФН определяли на спектрофотометре Shimadzu по уменьшению адсорбции при 340 нм и рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции 6,22 мМ<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>. Содержание белка во фракциях измеряли по методу Лоури [17].

Для обработки полученных результатов использовали стандартные пакеты программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 10. Основными статистическими характеристиками служили: среднее арифметическое ( $\bar{x}$ ), среднее квадратичное отклонение ( $S$ ), ошибка средней величины ( $S_{\bar{x}}$ ). Различия между средними показателями оценивали при уровне значимости ( $p$ ) не менее 0,05.

**Результаты и их обсуждение.** С целью выявления нарушений фотосинтетических реакций при действии повышенной температуры с помощью метода РАМ-флуориметрии изучено структурно-функциональное состояние ФС2 и ее акцепторов. Потенциальный ( $F_v/F_m$ ) и эффективный ( $\Phi_{\text{ФС2}}$ ) квантовые выходы фотохимических реакций ФС2, так же как и скорость потока электронов через ФС2 (ETR2), существенно не отличались в необработанных и прогретых проростках ячменя (см. таблицу), что свидетельствует об отсутствии повреждений пигмент-белкового комплекса ФС2 и нарушений в протекании первичных фотохимических реакций в реакционном центре ФС2 в результате температурной обработки.

**Параметры индукции флуоресценции хлорофилла *a* необработанных и подвергшихся тепловому воздействию (3 ч, 40 °С) проростков ячменя**

**Chlorophyll *a* fluorescence parameters in untreated and heated (3 h, 40 °С) barley seedlings**

Показатель	Вариант	
	Контроль	ТШ (тепловой шок)
$F_0$	0,793 ± 0,001	0,725 ± 0,001*
$F_v/F_m$	0,801 ± 0,005	0,820 ± 0,001*
$\Phi_{\text{ФС2}}$	0,681 ± 0,001	0,656 ± 0,001*
ETR2	37,50 ± 0,47	36,10 ± 0,60*
$qN$	0,266 ± 0,002	0,255 ± 0,001*
$qP$	0,892 ± 0,004	0,885 ± 0,002*

**П р и м е ч а н и е.** Представлены данные, полученные на основании 9 независимых измерений на разных проростках ячменя. \* – различия между вариантами достоверны при  $p \leq 0,05$ .

О состоянии электрон-транспортной цепи хлоропластов судили по кинетической кривой переменной флуоресценции хлорофилла *a* (рис. 1). Изменения переменной флуоресценции обусловлены окислительно-восстановительными превращениями  $Q_A$  – первичного акцептора электрона ФС2. Восстановление  $Q_A$  вызывает возрастание флуоресценции, а его окисление вследствие дальнейшего транспорта электрона по электрон-транспортной цепи – ее уменьшение или

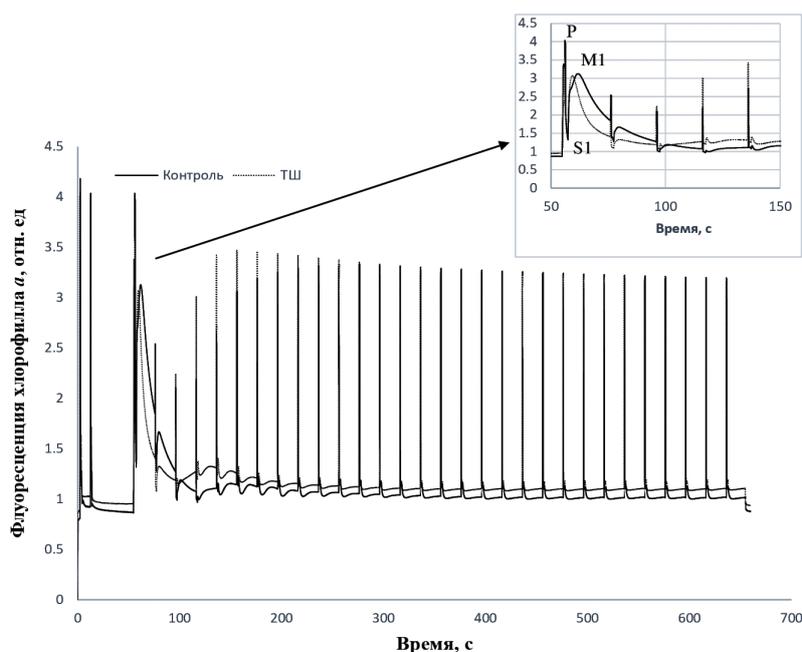


Рис. 1. Типичные кинетики флуоресценции хлорофилла *a* в необработанных и прогретых первых листьях проростков ячменя

Fig. 1. Kinetics of chlorophyll *a* fluorescence of first leaves of untreated and heated barley seedlings

тушение [11]. После включения актиничного света наблюдается быстрое восстановление всех первичных акцепторов ФС2 и рост переменной флуоресценции до максимального уровня Р (около 1 с). Затем при продолжающемся освещении свечение снижается до стационарного уровня Т в течение 10–20 мин. Индукция флуоресценции хлорофилла *a* имеет несколько пиков, которые обусловлены процессами, происходящими в фотосинтетическом аппарате. Продолжительное освещение адаптированных к темноте объектов приводит к постепенной активации ферментов цикла Кальвина. Наиболее быстро активируется на свету терминальный компонент электрон-транспортной цепи – фермент ферредоксин: НАДФ<sup>+</sup>-оксидоредуктаза (ФдОР). Уже через несколько секунд освещения она приобретает способность акцептировать электроны, и уровень переменной флуоресценции снижается от максимума Р до квазистационарного уровня S1. После начального участка светового спада PS1 переменная флуоресценция вновь растет на свету до второго максимума M1, появление которого связывают с возрастанием протонного градиента на тилакоидной мембране. Затем отмечается повторный спад флуоресценции до промежуточного минимума S2 и через 1,5–2 мин после начала освещения наблюдается третий кинетический максимум M2. Поскольку пик M2 специфически реагирует на присутствие CO<sub>2</sub> в газовой фазе, то его появление считается отражением полной активации ферментов темновой стадии фотосинтеза [18]. После пика M2 переменная флуоресценция снижается до низкого стационарного уровня Т. На рис. 1 представлены кинетические кривые флуоресценции хлорофилла *a*, зарегистрированные при освещении листьев постоянным актиничным и периодическими насыщающими вспышками света, которые полностью восстанавливают первичный акцептор ФС2 Q<sub>A</sub>. После каждого насыщающего импульса наблюдался спад флуоресценции PS1, и затем рост S1M1. Сравнение кинетики флуоресценции хлорофилла *a* контрольных и прогретых проростков ячменя выявило более быстрые нарастание S1M1 и спад пика S1 в термообработанных листьях. Эти данные могут свидетельствовать о более интенсивном оттоке электронов на акцепторной стороне ФС1 и нарастании протонного градиента на тилакоидной мембране в прогретых проростках по сравнению с контрольными растениями.

Молекулярную природу затухания флуоресценции хлорофилла *a* позволяет выявить анализ компонентов тушения – фотохимического и нефотохимического. Фотохимическое тушение обусловлено окислением Q<sub>A</sub> акцепторами электрон-транспортной цепи хлоропластов. Нефотохимическое тушение связано с безызлучательной диссипацией энергии электронного возбуждения, причинами которой являются ацидификация люмена и повышенный градиент концентрации протонов на тилакоидной мембране, разобщение светособирающего комплекса и ФС2, инактивация реакционных центров ФС2 вследствие фотоингибирования, образование зеаксантина и др. [11, 19, 20]. На рис. 2 представлены кинетики фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a*. Достоверные различия в ходе кинетики фотохимического тушения контрольных и прогретых листьев наблюдались в первые 60 с после включения актиничного света, нефотохимического – первые 160 с. Предварительное тепловое воздействие приводило к более интенсивному росту коэффициента фотохимического тушения в первые секунды после включения актиничного света. Подобный ход кинетической кривой *qP* может свидетельствовать о том, что тепловое воздействие ускоряет светоиндуцированный переход фотосинтетического аппарата из неактивного состояния в активное и формирование транстилакоидного протонного градиента.

Кинетика светоиндуцированного изменения нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла в прогретых проростках ячменя отличалась более высокой скоростью индуцированного светом роста *qN* с последующим сильно выраженным спадом по сравнению с контрольными растениями. Считается, что быстрый компонент нефотохимического тушения – «энергозависимое» тушение обусловлено внутритилакоидной ацидификацией во время светоиндуцированного перемещения протонов вдоль мембраны [18, 19]. Последующий спад *qN* связан с синтезом АТФ и активизацией ферментов цикла Кальвина. Таким образом, в прогретых проростках ячменя наблюдалось ускорение процесса ацидификации люмена по сравнению с контрольными в первые секунды освещения актиничным светом и быстрая активация темновой стадии фотосинтеза.

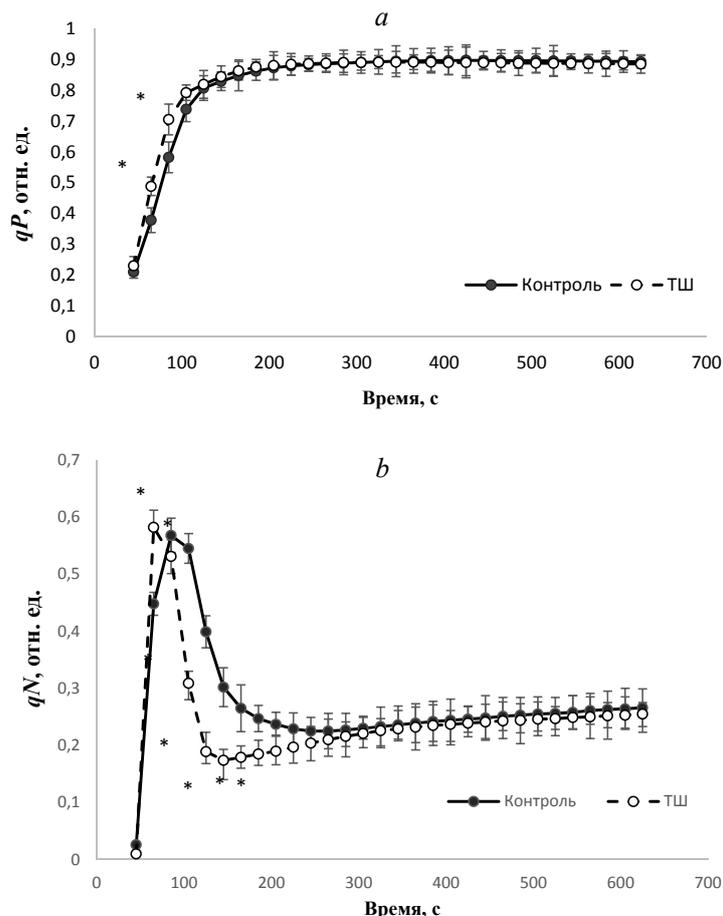


Рис. 2. Кинетики фотохимического (а) и нефотохимического (б) тушения флуоресценции хлорофилла *a* в контрольных и прогретых первых листьях проростков ячменя. \* – различия между вариантами на рис. 2–4 достоверны при  $p \leq 0,05$

Fig. 2. Kinetics of photochemical (a) and nonphotochemical (b) quenching of chlorophyll *a* fluorescence in control and heated first leaves of barley seedlings. \* – differences between the variants in fig. 2–4 are significant at  $p \leq 0,05$

Для ответа на вопрос, приводит ли термоиндуцированный рост транстилакоидного протонного градиента к повышению светоиндуцированного синтеза АТФ или активизирует альтернативные протекторные механизмы, была оценена скорость фотофосфорилирования. Тепловая обработка, наряду с существенным повышением скорости циклического фотофосфорилирования, вызвала незначительное снижение скорости нециклического фотофосфорилирования (рис. 3). Полученные нами результаты соответствуют литературным данным [21], согласно которым активация циклического пути транспорта электрона рассматривается как защитный механизм растений при воздействии ряда стрессовых факторов.

Существует несколько циклических потоков электронов через ФС1. Кроме классического циклического транспорта электронов, протекающего от ферредоксина через цитохром  $b_6/f$ -комплекс на пластоцианин, имеются и альтернативные потоки передачи электронов от ФС1 на пластохиноновый пул. Ферредоксин- и светозависимый транспорт электронов катализируется Фд:НАДФ-оксидоредуктазой, Фд:хинон-оксидоредуктазой и регулируется мембранными белками тилакоидов PGR5 и PGRL1 [22, 23]. Кроме того, Фд:НАДФ-оксидоредуктаза может поставлять электроны для восстановления пластохинонов в темноте через НАД(Ф)Н-дегидрогеназу [23, 24]. В настоящее время функциональная роль данного электронного потока активно изучается. Очевидно, что данный поток электронов играет важную роль в адаптации фотосинтетической электрон-транспортной цепи к изменяющимся условиям окружающей среды, будь то незначительные колебания освещенности или летальные стрессовые факторы [25, 26]. Изучение активности НАДФН-оксидазы показало, что в прогретых проростках она в 1,3 раза выше, чем в контроле (рис. 4).

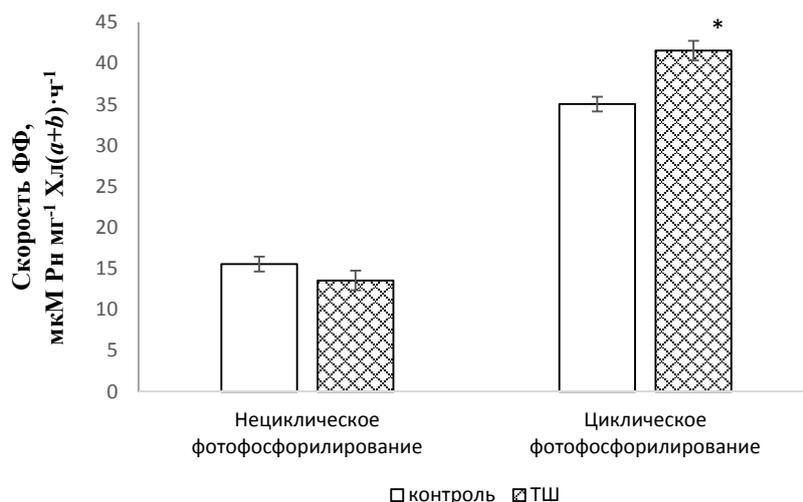


Рис. 3. Влияние повышенной температуры на скорость нециклического и циклического фотофосфорилирования в проростках ячменя

Fig. 3. Effect of elevated temperature on rate of cyclic and non-cyclic photophosphorylation in barley seedlings

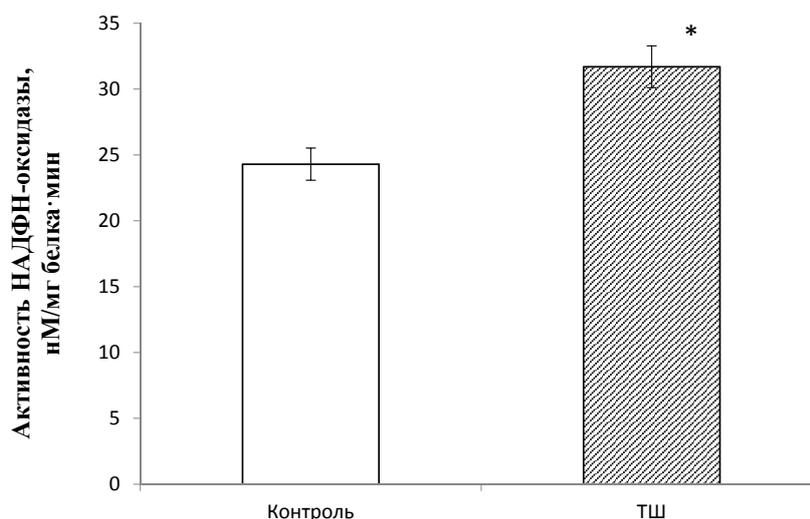


Рис. 4. Активность НАДФН-оксидазы в 7-дневных проростках ячменя в норме и при нагревании

Fig. 4. NADPH-oxidase activity in 7-days-old barley seedlings in norm and under heating

**Заклучение.** Суммируя полученные данные, можно заключить, что при тепловом воздействии (3 ч, 40 °С) процессы световой стадии фотосинтеза быстро адаптируются к изменяющимся условиям окружающей среды для предотвращения структурных повреждений основных пигмент-белковых комплексов. Изучение перехода фотосинтетических мембран из состояния 1 (адаптированные к темноте) в состояние 2 (адаптированные к освещению) позволило выявить, что в прогретых проростках после включения актиничного света наблюдается более интенсивный светозависимый рост транстилакоидного протонного градиента, чем в контрольных растениях. Генерация повышенного транстилакоидного протонного градиента может происходить в результате сокращения объема фотосинтетически активного пластохинонового пула, что было показано нами для 7-дневных прогретых проростков ячменя [27]. Однако повышенный уровень окисленности данного пула в исследуемых условиях теплового стресса [27] свидетельствует об активации альтернативного, циклического, потока электронов. Полученные данные подтверждают это предположение, при этом показана термоиндуцированная активизация альтернативного НАД(Ф)Н-зависимого потока электронов. Активация циклического транспорта электронов про-

исходит, как известно, для поддержания корректного отношения НАД(Ф)Н/АТФ и предотвращения перевосстановления стромальных носителей [28, 29]. Далее, по мере установления квазистационарного состояния фотосинтетического аппарата, активизируются ферменты цикла Кальвина, потребляющие АТФ и НАД(Ф)Н, достигается равновесие между функционированием электрон-транспортной цепи хлоропластов и темновой стадией фотосинтеза. Эффективность функционирования фотосинтетических процессов в предварительно прогретых (3 ч, 40 °С) и контрольных растениях в этот период достоверно не различалась. Нами сделано предположение, что регуляция функционирования электрон-транспортной цепи хлоропластов может происходить следующим образом. В соответствии с моделью латеральной организации тилакоидных мембран, предложенной в работах [29, 30], линейный и циклический потоки электронов проходят через различные типы ФС1 (ФС1<sub>линейн</sub> и ФС1<sub>цикл</sub>), которые локализованы в различных компартментах тилакоидных мембран. ФС1<sub>линейн</sub> связана с ФдОР, через которую и передает электроны к НАДФ<sup>+</sup>. ФС1<sub>цикл</sub> не связана с ФдОР и не способна передавать электроны на растворимый пул ферредоксина. В этом случае ФдОР формирует комплекс с цитохром b<sub>6</sub>/f-комплексом, на стромальной стороне которого локализуется сайт связывания ферредоксина. Кроме того, электронные потоки через эти ФС обеспечиваются различными пулами пластохиновых молекул. В условиях активизации циклического электронного транспорта происходит высвобождение ФдОР от ФС1 и соотношение ФС1<sub>цикл</sub>/ФС<sub>общ</sub> увеличивается. Возрастает и количество пластохиновых молекул, участвующих в циклическом электронном транспорте. При этом количество окисленных пластохиновых молекул на акцепторной стороне ФС2 может не изменяться на фоне повышения общего количества окисленных пластохионов. В результате ΔpH снижается и ФдОР вновь может образовывать комплекс с ФС1.

#### Список использованных источников

1. He, M. Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance / M. He, Ch.-Q. He, N.-Zh. Ding // *Frontiers Plant Sci.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 1771. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
2. Enhancing the abiotic stress tolerance of plants: from chemical treatment to biotechnological approaches / H.-Ch. Nguyen [et al.] // *Physiologia Plantarum.* – 2018. – Vol. 164, N 4. – P. 452–466. <https://doi.org/10.1111/ppl.12812>
3. Plant responses and tolerance to high temperature stress: role of exogenous phytoprotectants / N. Kamrun [et al.] // *Crop production and global environmental issues* / ed. Kh. R. Hakeem. – Cham, 2015. – P. 385–435.
4. Carpentier, R. Effect of high-temperature stress on the photosynthetic apparatus / R. Carpentier // *Books in soils, plants, and the environment* / ed. M. Pessarakli. – New York, 1999. – P. 337–348.
5. Derks, A. Diverse mechanisms for photoprotection in photosynthesis. Dinamic regulation of photosystem II excitation in response to rapin environmental change / A. Derks, K. Schaven, D. Bruce // *Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics.* – 2015. – Vol. 1847, N 4–5. – P. 468–485. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.02.008>
6. During state 1 to state 2 transition in arabidopsis thaliana, the photosystem II supercomplex gets phosphorylated but does not disassemble / E. Wientjes [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2013. – Vol. 288, N 46. – P. 32821–32826. <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.511691>
7. Chloroplast remodeling during state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii* as revealed by noninvasive techniques *in vivo* / G. Nagy [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2014. – Vol. 111, N 13. – P. 5042–5047. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322494111>
8. Nikkanen, L. Chloroplast thioredoxin systems dynamically regulate photosynthesis in plants / L. Nikkanen, E. Rintamäki // *Biochem. J.* – 2019. – Vol. 476, N 7. – P. 1159–1172. <https://doi.org/10.1042/bcj20180707>
9. Thioredoxin redox regulates ATPase activity of magnesium chelatase CHL1 subunit and modulates redox-mediated signaling in tetrapyrrole biosynthesis and homeostasis of reactive oxygen species in pea plants / T. Luo [et al.] // *Plant Physiol.* – 2012. – Vol. 159, N 1. – P. 118–130. <https://doi.org/10.1104/pp.112.195446>
10. Regulation of Rubisco activase and its interaction with Rubisco / A. R. Portis [et al.] // *J. Exp. Bot.* – 2007. – Vol. 59, N 7. – P. 1597–1604. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm240>
11. Krause, G. H. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics / G. H. Krause, E. Weis // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Mol. Biol.* – 1991. – Vol. 42, N 1. – P. 313–349. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.42.1.313>
12. Pfündel, E. Monitoring the effects of reduced PS II antenna size on quantum yields of photosystems I and II using the Dual-PAM-100 measuring system / E. Pfündel, Ch. Klughammer, U. Schreiber // *PAM Application Notes.* – 2008. – Vol. 1. – P. 21–24.
13. Robinson, H. H. Effect of manganese on the nuclear magnetic relaxivity of water protons in chloroplast suspensions / H. H. Robinson, R. R. Sharp, C. F. Yocum // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1980. – Vol. 93, N 3. – P. 755–761. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(80\)91141-9](https://doi.org/10.1016/0006-291x(80)91141-9)
14. Гавриленко, В. Ф. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание / В. Ф. Гавриленко, М. Е. Ладыгина, Л. М. Хандобина. – М. : Высш. шк., 1975. – 392 с.

15. Lowry, O. H. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters / O. H. Lowry, J. A. Lopez // *J. Biol. Chem.* – 1946. – Vol. 162. – P. 421–428.
16. Pinton, R. Zinc deficiency enhanced NAD(P)H-dependent superoxide radical production in plasma membrane vesicles isolated from roots of bean plants / R. Pinton, I. Cakmak, H. Marschner // *J. Exp. Bot.* – 1994. – Vol. 45, N 1. – P. 45–50. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.1.45>
17. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.
18. Карапетян, Н. В. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений / Н. В. Карапетян, Н. Г. Бухов // *Физиология растений.* – 1986. – Т. 33, № 5. – С. 1013–1026.
19. A four state parametric model for the kinetics of the non-photochemical quenching in Photosystem II / J. J. Snellenburg [et al.] // *Biochem. Biophys. Acta. Bioenergetics.* – 2017. – Vol. 1858, N 10. – P. 854–864. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.08.004>
20. pH dependence, kinetics and light-harvesting regulation of nonphotochemical quenching in *Chlamydomonas* / L. Tian [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2019. – Vol. 116, N 17. – P. 8320–8325. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817796116>
21. Ruban, A. V. The photoprotective molecular switch in the photosystem II antenna / A. V. Ruban, M. P. Johnson, Ch. D. P. Duffy // *Biochem. Biophys. Acta.* – 2012. – Vol. 1817, N 1. – P. 167–181. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.007>
22. Miyake, Ch. Alternative electron flows (water–water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions / Ch. Miyake // *Plant Cell Physiol.* – 2010. – Vol. 51, N 12. – P. 1951–1963. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq173>
23. Bukhov, N. Alternative photosystem I-driven electron transport routes: mechanisms and functions / N. Bukhov, R. Carpentier // *Photosynth. Res.* – 2004. – Vol. 82, N 1. – P. 17–33. <https://doi.org/10.1023/b:pres.0000040442.59311.72>
24. Mulo, P. Chloroplast-targeted ferredoxin-NADP<sup>+</sup> oxidoreductase: structure, function and location / P. Mulo // *Biochem. Biophys. Acta. Bioenergetics.* – 2011. – Vol. 1807, N 8. – P. 927–934. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.10.001>
25. Cold stress effect on PSI photochemistry in *Zea mays*: differential increase of FQR-dependent cyclic electron flow and functional implications / L. V. Savitch [et al.] // *Plant Cell Physiol.* – 2011. – Vol. 52, N 6. – P. 1042–1054. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr056>
26. Abolition of photosystem I cyclic electron flow in *Arabidopsis thaliana* following thermal-stress / J. Essemine [et al.] // *Plant Physiol Biochem.* – 2011. – Vol. 49, N 3. – P. 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.11.002>
27. Function of plastoquinone in heat stress reactions of plants / N. Pshybytko [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics.* – 2008. – Vol. 1777, N 11. – P. 1393–1399. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.08.005>
28. Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis / Y. Munekage [et al.] // *Nature.* – 2004. – Vol. 429, N 6991. – P. 579–582. <https://doi.org/10.1038/nature02598>
29. Joly, D. Regulation of energy dissipation in photosystem I by the redox state of the plastoquinone pool / D. Joly, R. Carpentier // *Biochemistry.* – 2007. – Vol. 46, N 18. – P. 5534–5541. <https://doi.org/10.1021/bi602627d>
30. Joliot, P. Cyclic electron transfer in plant leaf / P. Joliot, A. Joliot // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 99, N 15. – P. 10209–10214. <https://doi.org/10.1073/pnas.102306999>

## References

1. He M., He Ch.-Q., Ding N.-Zh. Abiotic stresses: general defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 2018, vol. 9, art. 1771. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
2. Nguyen H.-Ch., Lin K.-H., Ho Sh.-L., Chiang Ch.-M., Yang Ch.-M. Enhancing the abiotic stress tolerance of plants: from chemical treatment to biotechnological approaches. *Physiologia Plantarum*, 2018, vol. 164, no. 4, pp. 452–466. <https://doi.org/10.1111/ppl.12812>
3. Kamrun N., Hasanuzzaman M., Uddin Ahamed K., Rehman Hakeem Kh., Ozturk M., Fujita M. Plant responses and tolerance to high temperature stress: role of exogenous phytoprotectants. *Crop production and global environmental issues*. Cham, 2015, pp. 385–435.
4. Carpentier R. Effect of high-temperature stress on the photosynthetic apparatus. *Books in soils, plants, and the environment*. New York, 1999, pp. 337–348.
5. Derks A., Schaven K., Bruce D. Diverse mechanisms for photoprotection in photosynthesis. Dinamic regulation of photosystem II excitation in response to rapin environmental change. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2015, vol. 1847, no. 4–5, pp. 468–485. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.02.008>
6. Wientjes E., Drop B., Kouřil R., Boekema E. J., Croce R. During state 1 to state 2 transition in *Arabidopsis thaliana*, the Photosystem II supercomplex gets phosphorylated but does not disassemble. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, vol. 288, no. 46, pp. 32821–32826. <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.511691>
7. Nagy G., Ünneper R., Zsiros O., Tokutsu R., Takizawa K., Porcar L. [et al.]. Chloroplast remodeling during state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii* as revealed by noninvasive techniques *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no. 13, pp. 5042–5047. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322494111>
8. Nikkanen L., Rintamäki E. Chloroplast thioredoxin systems dynamically regulate photosynthesis in plants. *Biochemical Journal*, 2019, vol. 476, no. 7, pp. 1159–1172. <https://doi.org/10.1042/bcj20180707>
9. Luo T., Fan T., Liu Y., Rothbart M., Yu J., Zhou S., Grimm B., Luo M. Thioredoxin redox regulates ATPase activity of magnesium chelatase CHL1 subunit and modulates redox-mediated signaling in tetrapyrrole biosynthesis and homeostasis of reactive oxygen species in pea plants. *Plant Physiology*, 2012, vol. 159, no. 1, pp. 118–130. <https://doi.org/10.1104/pp.112.195446>

10. Portis A. R., Li C., Wang D., Salvucci M. E. Regulation of Rubisco activase and its interaction with Rubisco. *Journal of Experimental Botany*, 2007, vol. 59, no. 7, pp. 1597–1604. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm240>
11. Krause G. H., Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, vol. 42, no. 1, pp. 313–349. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.42.1.313>
12. Pfündel E., Klughammer Ch., Schreiber U. Monitoring the effects of reduced PS II antenna size on quantum yields of photosystems I and II using the Dual-PAM-100 measuring system. *PAM Application Notes*, 2008, vol. 1, pp. 21–24.
13. Robinson H. H., Sharp R. R., Yocum C. F. Effect of manganese on the nuclear magnetic relaxivity of water protons in chloroplast suspensions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1980, vol. 93, no. 3, pp. 755–761. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(80\)91141-9](https://doi.org/10.1016/0006-291x(80)91141-9)
14. Gavrilenko V. F., Ladygina M. E., Khandobina L. M. *Great workshop on plant physiology. Photosynthesis. Respiration*. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1975. 392 p. (in Russian).
15. Lowry O. H., Lopez J. A. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. *Journal of Biological Chemistry*, 1946, vol. 162, pp. 421–428.
16. Pinton R., Cakmak I., Marschner H. Zinc deficiency enhanced NAD(P)H-dependent superoxide radical production in plasma membrane vesicles isolated from roots of bean plants. *Journal of Experimental Botany*, 1994, vol. 45, no. 1, pp. 45–50. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.1.45>
17. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275.
18. Karapetyan N. V., Bukhov N. G. Variable chlorophyll fluorescence as an indicator of the physiological state of plants. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 1986, vol. 33, no. 5, pp. 1013–1026 (in Russian).
19. Snellenburga J. J., Johnson M. P., Ruban A. V., van Grondelle R., van Stokkum I. H. M. A four state parametric model for the kinetics of the non-photochemical quenching in Photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2017, vol. 1858, no. 10, pp. 854–864. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.08.004>
20. Tian L., Nawrocki W. J., Liu X., Polukhina L., van Stokkum I. H. M., Croce R. pH dependence, kinetics and light-harvesting regulation of nonphotochemical quenching in *Chlamydomonas*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, vol. 116, no. 17, pp. 8320–8325. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817796116>
21. Ruban A. V., Johnson M. P., Duffy Ch. D. P. The photoprotective molecular switch in the photosystem II antenna. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, vol. 1817, no. 1, pp. 167–181. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.007>
22. Miyake Ch. Alternative electron flows (water–water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. *Plant and Cell Physiology*, 2010, vol. 51, no. 12, pp. 1951–1963. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq173>
23. Bukhov N., Carpentier R. Alternative photosystem I-driven electron transport routes: mechanisms and functions. *Photosynthesis Research*, 2004, vol. 82, no. 1, pp. 17–33. <https://doi.org/10.1023/b:pres.0000040442.59311.72>
24. Mulo P. Chloroplast-targeted ferredoxin-NADP<sup>+</sup> oxidoreductase: structure, function and location. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2011, vol. 1807, no. 8, pp. 927–934. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.10.001>
25. Savitch L. V., Ivanov A. G., Gudynaite-Savitch L., Huner N. P. A. Simmonds J. Cold stress effect on PSI photochemistry in *Zea mays*: differential increase of FQR-dependent cyclic electron flow and functional implications. *Plant and Cell Physiology*, 2011, vol. 52, no. 6, pp. 1042–1054. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr056>
26. Essemine J., Govindachary S., Ammar S., Bouzid S., Carpentier R. Abolition of photosystem I cyclic electron flow in *Arabidopsis thaliana* following thermal-stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011, vol. 49, no. 3, pp. 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.11.002>
27. Pshybytko N., Kruk J., Kabashnikova L., Strzalka K. Function of plastoquinone in heat stress reactions of plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2008, vol. 1777, no. 11, pp. 1393–1399. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.08.005>
28. Munekage Y., Hashimoto M., Miyake C., Tomizawa K.-I., Endo T., Tasaka M., Shikanai T. Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature*, 2004, vol. 429, no. 6991, pp. 579–582. <https://doi.org/10.1038/nature02598>
29. Joly D., Carpentier R. Regulation of energy dissipation in photosystem I by the redox state of the plastoquinone pool. *Biochemistry*, 2007, vol. 46, no. 18, pp. 5534–5541. <https://doi.org/10.1021/bi602627d>
30. Joliot P., Joliot A. Cyclic electron transfer in plant leaf. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, vol. 99, no. 15, pp. 10209–10214. <https://doi.org/10.1073/pnas.102306999>

### Информация об авторах

*Пшибытко Наталья Ленгиновна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pshybytko@bsu.by

*Бачище Татьяна Сергеевна* – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tatsiana.bachyshcha@gmail.com

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

### Information about the authors

*Natallia L. Pshybytko* – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pshybytko@bsu.by

*Tatsiana S. Bachyshcha* – 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: tatsiana.bachyshcha@gmail.com

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

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 581.1  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-163-170>

Поступила в редакцию 14.01.2020  
Received 14.01.2020

**Н. В. Шалыго**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ КЛЕТОК МИКРОВОДОРОСЛИ *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ДЕФИЦИТНЫХ ПО БИОГЕННЫМ ЭЛЕМЕНТАМ СРЕДАХ**

**Аннотация.** В клетках микроводоросли *Haematococcus pluvialis* (штамм IBCE H-17) изучено накопление каротиноидов (каротиногенез) при их культивировании на питательных средах, дефицитных по биогенным элементам – азоту (N) и калию совместно с фосфором (K + P). Показано, что при выращивании гематококка на среде, дефицитной по K + P, к 18-м суткам культивирования в клетках водоросли в основном накапливались астаксантин и β-каротин. Далее по уровню накопления, превышающему контроль (полная питательная среда), по убывающей следовали антераксантин, зеаксантин и виолаксантин, в то время как количество неоксантина и лютеина находилось на уровне контрольных значений. Каротиногенез в таких условиях протекал на фоне высокого содержания хлорофилла (*a + b*), сопоставимого с его уровнем в контроле. Напротив, при использовании питательной среды, дефицитной по N, накопление каротиноидов в клетках гематококка проходило на фоне снижающегося количества хлорофилловых пигментов. При этом к 18-м суткам культивирования в клетках водоросли накапливался преимущественно астаксантин, в меньшей степени – β-каротин. Содержание лютеина, антераксантина, зеаксантина и виолаксантина было ниже контрольных значений, а количество неоксантина находилось на уровне контроля. В целом накопление астаксантина в условиях дефицита N было более эффективным по сравнению с контролем (в 4,3 и 1,8 раза соответственно), а также при использовании питательной среды, дефицитной по K + P.

**Ключевые слова:** *Haematococcus pluvialis*, каротиногенез, биогенные элементы, дефицит азота, дефицит калия и фосфора, фотосинтетические пигменты, астаксантин

**Для цитирования:** Шалыго, Н. В. Пигментный состав клеток микроводоросли *Haematococcus pluvialis* при культивировании на дефицитных по биогенным элементам средах / Н. В. Шалыго // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 163–170. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-163-170>

**Nikolai V. Shalygo**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

## **THE PIGMENT COMPOSITION OF *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* MICROALGAE CELLS UPON CULTIVATED ON BIOGENIC-DEFICIENT MEDIA**

**Abstract.** The accumulation of carotenoids (carotenogenesis) in the cells of *Haematococcus pluvialis* (strain IBCE H-17) upon cultivation in nutrient media deficient in nutrient elements (N and K + P) is shown. K and P deficiency in nutrient medium led to accumulation of astaxanthin, β-carotene, anteraxanthin, zeaxanthin and violaxanthin after 18 days of cultivation, while the amount of neoxanthin and lutein was at the control level. Carotenogenesis under such conditions was accompanied by high levels of chlorophyll (*a + b*). The use of nutrient medium deficient in N led to the accumulation of astaxanthin and, to a lesser extent, β-carotene in *haematococcus* cells, while lutein, anteraxanthin, zeaxanthin, violaxanthin and neoxanthin levels were lower or the same as control. N deficiency caused the decrease in amount of chlorophyll (*a + b*). Nitrogen deficiency was 4.3 times more effective than control medium and 1.8 times more effective than combined potassium and phosphorus deficiency in promoting astaxanthin accumulation.

**Keywords:** *Haematococcus pluvialis*, carotenogenesis, biogenic elements, nitrogen deficiency, potassium and phosphorus deficiency, photosynthetic pigments, astaxanthin

**For citation:** Shalygo N. V. The pigment composition of *Haematococcus pluvialis* microalgae cells upon cultivated on biogenic-deficient media. *Vesti Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 163–170 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-163-170>

**Введение.** Клетки зеленой одноклеточной микроводоросли *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) на стадии активного роста имеют овальную форму, подвижны, окрашены в зеленый цвет и содержат пигменты: хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, β-каротин, лютеин, неоксантин, виолаксантин, а также следовые количества зеаксантина и феофитина *a*. В неблагоприятных для роста и развития условиях

эти клетки сначала приобретают пальмеллоидную структуру, т. е. теряют жгутики, округляются и увеличиваются в размерах, а затем образуют окруженные многослойной оболочкой цисты (апланоспоры) [1]. Насыщенный красный цвет апланоспор обусловлен пигментом астаксантином, который аккумулируется в липидных везикулах преимущественно в виде эфиров с полиненасыщенными жирными кислотами и защищает клетки гематококка от окислительного стресса, вызванного действием стрессоров разной природы [2–7].

Астаксантин (3,3'-дигидрокси-4,4'-дикето-β-каротин), являясь производным β-каротина, отличается от последнего наличием двух атомов кислорода (в виде гидроксила и кетогруппы) в каждом из двух иононовых колец, что придает ему уникальные свойства. На сегодняшний день астаксантин считается одним из наиболее сильных антиоксидантов. Он используется в пищевой и фармацевтической промышленности, а также в косметологии [8–11]. Астаксантин обладает ярко выраженным противовоспалительным действием, а также способностью проникать через гематоэнцефалический барьер, что определяет эффективность его использования в прикладной медицине для профилактики и лечения заболеваний центральной нервной системы. В отличие от β-каротина, астаксантин не является провитамином А, поэтому норму его суточного потребления по медицинским показаниям можно увеличивать до 20 мг/сут, не опасаясь побочных явлений, характерных для высоких концентраций витамина А. Астаксантин является важным компонентом кормов в аквакультуре для лососевых рыб (форели, лосося, семги) и ракообразных (креветок, омаров, лобстеров). Именно астаксантин определяет нормальный метаморфоз личинок, окраску их мышечных тканей и наружных покровов, а следовательно, товарный вид, вкусовые качества и другие потребительские свойства продуктов. Астаксантин используется в кормовых добавках для пигментации яичных желтков кур. Он также может быть использован для улучшения цвета и увеличения срока хранения различных продуктов растительного и животного происхождения: молочной продукции, майонезов, кондитерских кремов [12].

Астаксантин содержат и другие водоросли, а также грибы, бактерии и высшие растения. Однако наиболее высокое содержание астаксантина (до 7 % от сырой биомассы) регистрируется у *H. pluvialis* при культивировании водоросли в стрессовых условиях, таких как свет высокой интенсивности [3], добавление NaCl или этанола в питательную среду [7, 13], дефицит макроэлементов (N + P) в питательной среде [3, 4]. Биотехнологические компании имеют в своих альгологических коллекциях штаммы *H. pluvialis* – продуценты астаксантина. В Республике Беларусь также имеется коллекция водорослей, которая находится в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Коллекция содержит *H. pluvialis*, штамм IBCE Н-17 [14]. Указанный штамм гематококка в качестве продуцента астаксантина практически не изучен.

Цель работы – изучить пигментный состав клеток *H. pluvialis* (штамм IBCE Н-17) при культивировании водоросли в условиях стресса, создаваемого дефицитом биогенных элементов (N, K + P), для получения биомассы, обогащенной астаксантином.

**Объекты и методы исследования.** В работе использовали водоросль *H. pluvialis* (штамм IBCE Н-17) из альгологической коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси [14]. Посевной материал водоросли готовили, как описано в статье [15], и выращивали на среде Рудика при освещении люминесцентными лампами Philips TD-36/765, освещенности 2000 лк и режиме 14 ч света – 10 ч темноты при температуре  $23 \pm 2$  °С в световом периоде. В процессе выращивания посевного материала суспензию водоросли продували воздухом с помощью компрессора для аквариумов (HAILEA – АСО-09903), подающего 4,2 л воздуха в минуту. Через 4 сут культивирования клетки гематококка осаждали путем центрифугирования, промывали дистиллированной водой, после чего использовали в опыте. Для этого клеточную массу ресуспендировали в среде Рудика (контроль) либо в среде Рудика, дефицитной по N или K + P (опыт), доводя содержание клеток до  $1,8 \cdot 10^5$  в 1 мл. Для приготовления дефицитной по N среды из нее исключали  $\text{NaNO}_3$ . Для приготовления питательной среды, дефицитной по K + P, из среды Рудика исключали  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  и  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Суспензию гематококка культивировали в указанном выше режиме без барботаж, перемешивая вручную через каждые 2 ч в световом периоде. Пробы для анализа отбирали на 9-е и 18-е сутки культивирования.

Содержание хлорофилла ( $a + b$ ) и каротиноидов в образцах оценивали с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа (Shimadzu Prominence LC 20, Япония) с колонкой Nucleodur C18 Gravity (тип C18, размер частиц 3 мкм, длина 15 см) фирмы Macherey–Nagel (Германия). Экстракцию фотосинтетических пигментов из клеток водоросли осуществляли с помощью щелочного ацетона (100 % ацетона + 0,4 % водного  $\text{NH}_3$  в соотношении 9:1 по объему), как описано в работе [15]. Для разделения пигментов в хроматографической колонке использовали растворы А (90 % ацетонитрила, 9,9 %  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 % триэтиламина) и В (100 % этилацетата), скорость потока которых, согласно описанной в работе [16] программе, была 0,5 мл/мин. Объем инъекции составлял 20 мкл. Пигменты регистрировали спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей Shimadzu SPD-M20A (Япония) в диапазоне 200–800 нм. Для визуализации профиля хроматограммы выделяли спектр поглощения при 440 нм. Для количественного определения пигментов использовали площади пиков хроматограммы. Расчет содержания пигментов производили по формуле

$$C_{\text{пигм}} = S_{440} F_{\text{пигм}} V / V_{\text{инъекц}} m,$$

где  $C_{\text{пигм}}$  – содержание пигмента, мкг/г сухой массы;  $S_{440}$  – площадь пика поглощения при 440 нм;  $F_{\text{пигм}}$  – фактор (коэффициент) для расчета, полученный исходя из стандартов разделяемых веществ;  $V$  – объем супернатанта;  $V_{\text{инъекц}}$  – объем инъекции;  $m$  – масса навески, г.

Количество астаксантина в клетках гематококка определяли также с помощью хроматографии высокого давления. Для этого клетки гематококка осаждали при 12 000 г в течение 10 мин. Осадок ресуспендировали в 0,5 мл 4 н  $\text{HCl}$ . Полученную суспензию нагревали при 70 °С в течение 5 мин, после чего центрифугировали при указанных выше условиях, а затем дважды промывали осадок 2 мл дистиллированной воды, чтобы удалить остатки кислоты. После каждой промывки суспензию центрифугировали при 12 000 г в течение 10 мин. Для извлечения пигментов промытый осадок ресуспендировали в 0,5 мл метанола, встряхивали в течение 30 мин на шейкере и центрифугировали при 12 000 г в течение 10 мин. Процедуру экстрагирования пигментов в 0,5 мл метанол повторяли еще раз. Для разрушения эфирных связей к 1,0 мл суммарного экстракта добавляли 20 мкл 1 М  $\text{KOH}$  и оставляли в темноте на 6 ч при комнатной температуре. Полученный экстракт использовали для проведения хроматографии. Объем инъекции составлял 20 мкл. Разделение пигментов в колонке производили так же, как описано выше для хлорофилла и каротиноидов. Пигменты регистрировали детектором с диодной матрицей по спектрам поглощения в диапазоне 200–800 нм. Для визуализации профиля хроматограммы выделяли спектр поглощения при 475 нм. Площадь под пиком 475 нм хроматограммы использовали для количественного определения пигментов.

Количество клеток в суспензии водоросли оценивали при помощи камеры Горяева, используя микроскоп Nikon Eclipse TS100 с камерой Nikon DS-Fi2 (Япония), и построенной калибровочной кривой, как это описано в работе [15].

В работе приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки, полученные в ходе трех независимых опытов.

**Результаты и их обсуждение.** Изменение пигментного состава клеток гематококка в опытных вариантах, особенно на дефицитной по N среде, становилось визуально заметным уже на 3-и сутки культивирования. На это указывало появление розово-красного оттенка окрашенной в зеленый цвет суспензии водоросли, что свидетельствовало об активации каротиногенеза. К 9-м суткам выращивания суспензия водоросли в контроле оставалась зеленой, но имела слегка розово-красный оттенок, который при дефиците K + P был более выражен, а при дефиците N суспензия приобретала отчетливый розово-красный цвет. К 18-м суткам культивирования суспензия гематококка контрольного и опытного вариантов (дефицит K + P) становилась оранжево-красной, а суспензия водоросли, культивируемой на дефицитной по N среде, имела насыщенный розово-красный цвет.

Количественный анализ пигментного состава показал, что содержание хлорофилла ( $a + b$ ) в клетках гематококка при дефиците N снижалось и через 9 и 18 сут культивирования составило

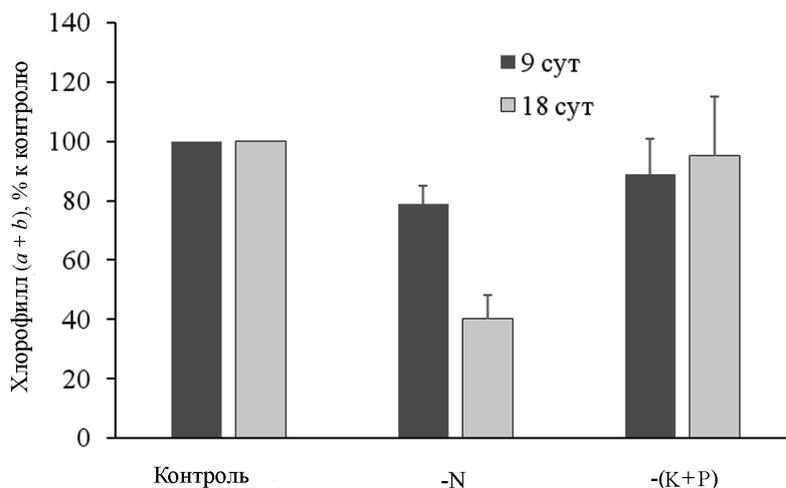


Рис. 1. Содержание хлорофилла ( $a + b$ ) в клетках гематококка при культивировании в течение 9 и 18 сут в полной питательной среде Рудика (контроль), в среде Рудика, дефицитной по азоту ( $-N$ ), а также по калию совместно с фосфором ( $-(K + P)$ )

Fig. 1. Chlorophyll ( $a + b$ ) content in haematococcus cells cultivated for 9 and 18 days in complete Rudic culture medium (control) and in Rudic media deficient in nitrogen ( $-N$ ) and potassium and phosphorus ( $-(K + P)$ )

79 и 40 % соответственно по сравнению с контролем. Напротив, количество хлорофилла ( $a + b$ ) в клетках водоросли, выращиваемой в течение 18 сут в дефицитной по  $K + P$  среде, достоверно не отличалось от контроля (рис. 1).

Выявленное снижение уровня хлорофилловых пигментов в клетках гематококка при культивировании в питательной среде, дефицитной по азоту, вполне объяснимо. Азот необходим для синтеза структурных белков фотосинтетического аппарата и ферментов, участвующих в биосинтезе хлорофилла, а в виде пиррола является неотъемлемой частью молекулы хлорофилла. Поэтому закономерно, что дефицит  $N$  в питательной среде приводит к снижению количества хлорофилла. Однако факт отсутствия снижения уровня хлорофилла ( $a + b$ ) в клетках гематококка при выращивании в среде, дефицитной по важным для растительной клетки биогенным элементам –  $K + P$ , заслуживает особого внимания. Аналогичная картина наблюдалась нами ранее в опытах с зеленой водорослью *Dunaliella salina* [17]. Так, установлено, что при выращивании дуналиеллы в течение 1 мес. на среде, дефицитной по  $K + P$ , содержание хлорофилла ( $a + b$ ) в ее клетках не снижалось, а превышало контрольные значения на 30 % и только при более длительном культивировании (в течение 2 мес.) фиксировалось резкое снижение количества хлорофилловых пигментов. Известно, что содержание калия в клетках растений существенно выше, чем других катионов, а фосфор запасается в растительных организмах в виде неорганических и органических фосфатов, поэтому клетки относительно длительное время не испытывают недостатка в этих биогенах [18]. Можно предположить, что создаваемый в наших опытах дефицит калия и фосфора, а также продолжительность культивирования гематококка не были критичными для процесса биосинтеза хлорофилла, а при более длительном выращивании водоросли на дефицитной по  $K + P$  среде могло бы быть зарегистрировано и снижение количества хлорофилла ( $a + b$ ).

Анализ каротиноидного комплекса позволил установить, что в варианте с использованием питательной среды, дефицитной по калию и фосфору, содержание астаксантина и  $\beta$ -каротина в 9-суточной культуре было близким к контролю, однако через 18 сут культивирования в таких условиях количество этих пигментов превысило контрольные значения в 2,2 и 2,4 раза соответственно (табл. 1, рис. 2). Содержание неоксантина и лютеина в клетках гематококка через 18 сут выращивания находилось на уровне контроля, а количество антераксантина, зеаксантина и виолаксантина превышало контрольные значения в 2,0; 1,5 и 1,3 раза соответственно.

При культивировании на питательной среде, дефицитной по азоту, клетки гематококка накапливали преимущественно астаксантин. Так, в 9-суточной суспензии его уровень составил 120 отн. ед/мл, а к 18-м суткам выращивания – почти 520 отн. ед/мл (рис. 2).  $\beta$ -Каротин при

дефиците азота накапливался в меньшей степени, его уровень в 9-дневной культуре превышал контрольные значения в 1,2 раза, а через 18 сут культивирования – в 1,6 раза (см. табл. 1). Содержание других каротиноидов в клетках гематококка, культивируемых на дефицитной по азоту питательной среде, было ниже контроля. В частности, количество неоксантина, лютеина, антраксантина, зеаксантина и виолаксантина через 18 сут культивирования составило 68, 71, 59, 82 и 70 % от контроля.

Таблица 1. Содержание каротиноидов (мкг/мл суспензии) в клетках гематококка при культивировании в течение 9 и 18 сут на полной питательной среде Рудика (контроль), а также на среде Рудика, дефицитной по N и K + P

Table 1. The content of carotenoids ( $\mu\text{g/ml}$  suspension) in haematococcus cells cultivated for 9 and 18 days in complete Rudic culture medium (control) and in Rudic media deficient in N and K + P

Каротиноиды	9 сут			18 сут		
	Контроль	-N	-(K + P)	Контроль	-N	-(K + P)
Неоксантин	23,3 $\pm$ 1,6 (100)	15,6 $\pm$ 0,9 (67)	26,0 $\pm$ 1,7 (112)	22,4 $\pm$ 2,8 (100)	15,3 $\pm$ 1,2 (68)	27,0 $\pm$ 1,4 (121)
Виолаксантин	14,6 $\pm$ 1,5 (100)	8,6 $\pm$ 0,8 (59)	10,6 $\pm$ 0,9 (73)	14,8 $\pm$ 1,8 (100)	8,0 $\pm$ 0,4 (54)	19,0 $\pm$ 1,3 (128)
Антраксантин	16,2 $\pm$ 1,5 (100)	7,2 $\pm$ 0,6 (44)	9,0 $\pm$ 0,5 (56)	10,5 $\pm$ 2,1 (100)	6,2 $\pm$ 0,8 (59)	20,6 $\pm$ 1,7 (196)
Лютеин	38,1 $\pm$ 3,8 (100)	29,0 $\pm$ 1,3 (76)	31,6 $\pm$ 2,6 (83)	39,0 $\pm$ 4,1 (100)	27,7 $\pm$ 2,4 (71)	40,3 $\pm$ 3,3 (103)
Зеаксантин	33,9 $\pm$ 3,1 (100)	20,5 $\pm$ 2,2 (60)	19,9 $\pm$ 1,5 (59)	23,8 $\pm$ 2,7 (100)	19,6 $\pm$ 2,0 (82)	35,4 $\pm$ 4,1 (149)
$\beta$ -Каротин	20,1 $\pm$ 2,5 (100)	23,7 $\pm$ 1,4 (118)	24,5 $\pm$ 1,8 (122)	20,0 $\pm$ 1,6 (100)	32,7 $\pm$ 3,0 (164)	65,2 $\pm$ 5,5 (325)

Примечание. Здесь и в табл. 2 скобках указан % к контролю.

Сопоставительный анализ пигментного состава клеток гематококка, культивируемых на дефицитной по калию и фосфору питательной среде, показывает, что каротиногенез в таких условиях протекает на фоне высокого уровня хлорофилловых пигментов. В целом каротиногенез (если оценивать по накоплению астаксантина) для 16-дневной культуры в клетках гематококка при

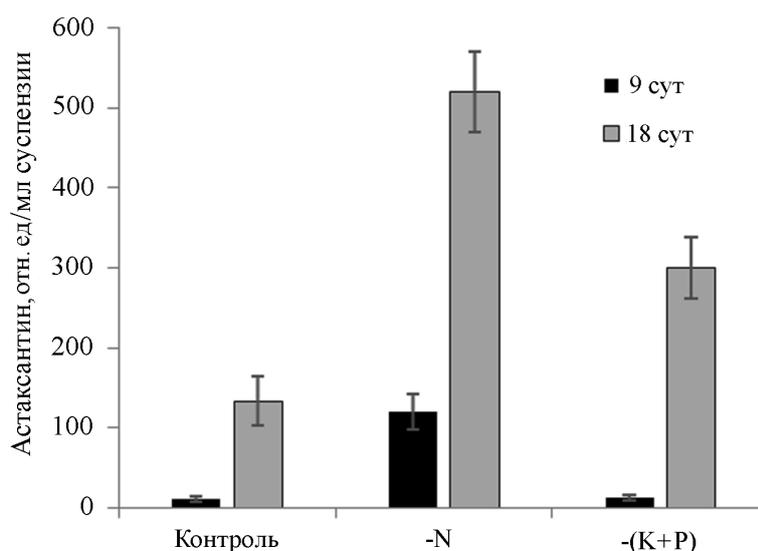


Рис. 2. Содержание астаксантина в клетках гематококка при культивировании в течение 9 и 18 сут на полной питательной среде Рудика и на среде Рудика, дефицитной по N либо по K + P

Fig. 2. Astaxanthin content in haematococcus cells cultivated for 9 and 18 days in complete Rudic culture medium and in Rudic media deficient in nitrogen (-N) or potassium and phosphorus (-(K + P))

использовании питательной среды, дефицитной по N и K + P, был в 3,9 и 2,5 раза более эффективным по сравнению с контролем и в 1,73 раза более эффективным при дефиците азота, чем при использовании среды, дефицитной по K + P.

Использование дефицитных по N и K + P сред приводило к снижению количества клеток в суспензии (табл. 2). В частности, если количество клеток в опытном варианте принять за 100 %, то при дефиците N и K + P эти значения в 9-суточной культуре составят 90 и 93 % соответственно. К 18-м суткам выращивания количество клеток при всех изученных вариантах снижалось, однако отмеченное выше соотношение между контролем и опытными вариантами сохранялось. Таким образом, если накопление астаксантина рассчитывать с учетом количества клеток, то отмеченная выше эффективность каротиногеназа изменяется, но не столь существенно. Так, количество астаксантина в клетках гематококка при дефиците азота превышало контрольное значение в 4,3 раза, при использовании дефицитной по K + P среды – в 1,8 раза.

Т а б л и ц а 2. Количество клеток в суспензии гематококка при культивировании в течение 9 и 18 сут на полной питательной среде Рудика и на среде Рудика, дефицитной по N либо K + P

T a b l e 2. Number of cells in haematococcus suspension cultivated for 9 and 18 days in complete Rudic culture medium and in Rudic media deficient in N or K + P

Вариант	К-во клеток, тыс/мл суспензии	
	9 сут культивир.	18 сут культивир.
Контроль	243 ± 21 (100)	225 ± 25 (100)
-N	219 ± 18 (90)	203 ± 19 (90)
-(K + P)	226 ± 20 (93)	209 ± 21 (93)

**Заключение.** Таким образом, установлено, что при выращивании гематококка на среде, дефицитной по азоту, каротиногенез протекал на фоне снижающегося количества хлорофилла (*a* + *b*). К 18-м суткам культивирования в клетках водоросли в таких условиях накапливался преимущественно кетокаротиноид астаксантин, в меньшей степени – β-каротин. Содержание лютеина, антраксантина, зеаксантина и виолаксантина в клетках гематококка, выращиваемого на дефицитной по азоту среде, было ниже контроля (полная питательная среда), а количество неоксантина практически не отличалось от контрольных значений. При использовании питательной среды, дефицитной по калию и фосфору, к 18-м суткам культивирования в клетках гематококка накапливались в основном астаксантин и β-каротин. Далее по уровню накопления, превышающему контроль, по убывающей следовали антраксантин, зеаксантин и виолаксантин, а количество неоксантина и лютеина в клетках гематококка находилось на уровне контроля. Показано, что каротиногенез в таких условиях протекал на фоне высокого уровня хлорофилловых пигментов. В целом, если оценивать каротиногенез по накоплению астаксантина в клетках гематококка, то более эффективным (в 1,7 раза) он был при культивировании водоросли на питательной среде, дефицитной по азоту, чем на среде, дефицитной по K + P.

**Благодарности.** Работа финансирована в рамках Государственной программы научных исследований Республики Беларусь «Биотехнологии» (грант 1.04, 2016–2018 гг.).

**Acknowledgements.** This work was supported by the State Program of Scientific Research of the Republic of Belarus “Biotechnology” (grant 1.04, 2016–2018).

### Список использованных источников

1. Morphological changes in the life cycle of the green alga *Haematococcus pluvialis* / M. Kobayashi [et al.] // J. Ferment. Bioeng. – 1997. – Vol. 84, N 1. – P. 94–97. [https://doi.org/10.1016/s0922-338x\(97\)82794-8](https://doi.org/10.1016/s0922-338x(97)82794-8)
2. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Navada, USA) under laboratory conditions / A. Cifuentes [et al.] // Biol. Res. – 2003. – Vol. 36, N 3–4. – P. 343–357. <https://doi.org/10.4067/s0716-97602003000300006>
3. Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* / A. Domínguez-Bocanegra [et al.] // Bioresource Technol. – 2004. – Vol. 92, N 2. – P. 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.04.001>

4. Metabolite profiling and integrative modeling reveal metabolic constraints for carbon partitioning under nitrogen starvation in the green algae *Haematococcus pluvialis* / L. Recht [et al.] // J. Biol. Chem. – 2014. – Vol. 289, N 44. – P. 30387–30403. <https://doi.org/10.1074/jbc.m114.555144>

5. The effect of temperature on cell growth and astaxanthin accumulation of *Haematococcus pluvialis* during a light–dark cyclic cultivation / M. Wan [et al.] // Bioresource Technol. – 2014. – Vol. 167. – P. 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.030>

6. Combination of blue, red, white, and ultraviolet lights for increasing carotenoids and biomass of Microalga *Haematococcus pluvialis* / E. A. Suyono [et al.] // Procedia Environmental Sci. – 2015. – Vol. 28. – P. 399–405. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.049>

7. Влияние NaCl на продуктивность водоросли *Haematococcus pluvialis* и содержание в ее клетках фотосинтетических пигментов, активных форм кислорода и астаксантина / Н. Г. Аверина [и др.] // Вест. Нац. акад. Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – № 3. – С. 263–275.

8. 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)

9. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition / G. Hussein [et al.] // J. Nat. Prod. – 2006. – Vol. 69, N 3. – P. 443–449. <https://doi.org/10.1021/np050354+>

10. Pashkow, F. J. Astaxanthin: a novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease / F. J. Pashkow, D. G. Watumull, C. L. Campbell // Am. J. Cardiol. – 2008. – Vol. 101, N 10. – P. S58–S68. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.010>

11. Шальго, Н. Медицинские аспекты альгологии / Н. Шальго // Наука и инновации. – 2018. – № 2. – С. 20–23.

12. Lorenz, R. T. Commercial potential for *Haematococcus microalgae* as a natural source of astaxanthin / R. T. Lorenz, G. R. Cysewski // Trends Biotechnol. – 2000. – Vol. 18, N 4. – P. 160–167. [https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(00\)01433-5](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(00)01433-5)

13. Ethanol induced astaxanthin accumulation and transcriptional expression of carotenogenic genes in *Haematococcus pluvialis* / Z. Wen [et al.] // Enzyme Microbiol. Technol. – 2015. – Vol. 78. – P. 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.06.010>

14. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей / С. С. Мельников [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 100 с.

15. Влияние 5-аминолевулиновой кислоты на продуктивность и пигментный состав водоросли *Haematococcus pluvialis* / Н. Г. Аверина [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 4. – С. 21–32.

16. Продуктивность и пигментный комплекс сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* при частичной замене бикарбоната натрия на гидроксид натрия в среде культивирования / Е. В. Вязов [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 4. – С. 7–12.

17. Сафонова, О. Ю. Накопление пигментов в клетках *Dunaliella salina* при дефиците азота, калия и фосфора в среде культивирования / О. Ю. Сафонова, М. С. Радюк, Н. В. Шальго // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. науч. конф. ; Тринадцатый съезд Белорус. обществ. объединения фотобиологов и биофизиков, 27–29 июня 2018 г., Минск, Беларусь : тез. докл. / редкол. : И. Д. Вологовский (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2018. – С. 127.

18. Loewus, F. A. Myo-inositol metabolism in plants / F. A. Loewus, P. N. Murthy // Plant Sci. – 2000. – Vol. 150, N 1. – P. 1–19. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(99\)00150-8](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(99)00150-8)

## References

1. Kobayashi M., Kurimura Y., Kakizono N., Nishio N., Tsuji Y. Morphological changes in the life cycle of the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1997, vol. 84, no. 1, pp. 94–97. [https://doi.org/10.1016/s0922-338x\(97\)82794-8](https://doi.org/10.1016/s0922-338x(97)82794-8)

2. Cifuentes A., Gonzáles M., Vargas S., Hoeneisen M., Gonzáles N. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Navada, USA) under laboratory conditions. *Biological Research*, 2003, vol. 36, no. 3–4, pp. 343–357. <https://doi.org/10.4067/s0716-97602003000300006>

3. Domínguez-Bocanegra A. R., Guerrero Legarreta I., Martínez Jerónimo F., Tomasini Campocósio A. Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 2004, vol. 92, no. 2, pp. 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.04.001>

4. Recht L., Töpfer N., Batushansky A., Sikron N., Gibon Y., Fait A., Nikoloski Z., Boussiba S., Zarka A. Metabolite profiling and integrative modeling reveal metabolic constraints for carbon partitioning under nitrogen starvation in the green algae *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, vol. 289, no. 44, pp. 30387–30403. <https://doi.org/10.1074/jbc.m114.555144>

5. Wan M., Zhang J., Hou D., Fan J., Li Y., Huang J., Wang J. The effect of temperature on cell growth and astaxanthin accumulation of *Haematococcus pluvialis* during a light–dark cyclic cultivation. *Bioresource Technology*, 2014, vol. 167, pp. 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.030>

6. Suyono E., Aminin, Pradani L., Mu'avatun U., Habiba R., Ramdaniyah, Rohma E. Combination of blue, red, white, and ultraviolet lights for increasing carotenoids and biomass of Microalga *Haematococcus pluvialis*. *Procedia Environmental Sciences*, 2015, vol. 28, pp. 399–405. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.049>

7. Aверина N. G., Kozel N. V., Shcherbakov R. A., Radyuk M. S., Manankina E. E., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Effect of NaCl on *Haematococcus pluvialis* productivity and content in its cells of photosynthetic pigments, active oxygen forms and

astaxanthine. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, no. 3, pp. 263–275 (in Russian).

8. Guerin M., Huntley M. E., Olaizola M. *Haematococcus astaxanthin*: applications for human health and nutrition. *Trends in 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)

9. Hussein G., Sankawa 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+>

10. Pashkow F. J., Watumull D. G., Campbell C. L. Astaxanthin: a novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease. *American Journal of Cardiology*, 2008, vol. 101, no. 10, pp. S58–S68. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.010>

11. Shalygo N. Medical aspects of algology. *Nauka i innovatsii* [Science and innovation], 2018, no. 2, pp. 20–23 (in Russian).

12. Lorenz R. T., Cysewski G. R. Commercial potential for *Haematococcus microalgae* as a natural source of astaxanthin. *Trends in Biotechnology*, 2000, vol. 18, no. 4, pp. 160–167. [https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(00\)01433-5](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(00)01433-5)

13. Wen Z., Liu Z., Hou Y., Liu C., Gao F., Zhenq 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>

14. Mel'nikov S. S., Manankina E. E., Shalygo N. V., Budakova E. A. *Catalogue of the genetic fund of economically useful species of algae*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 100 p. (in Russian).

15. Averina N. G., Shcherbakov R. A., Kozel N. V., Manankina E. E., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Effect of 5-amino-levulinic acid on the productivity and pigment composition of the 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).

16. Vyazov Y. V., Manankina E. E., Filipchik E. A., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Productivity and pigment complex of blue-green alga *Spirulina platensis* upon partial substitution of sodium bicarbonate for sodium hydroxide in culture medium. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 4, pp. 7–12 (in Russian).

17. Safonova O. Y., Radyuk M. S., Shalygo N. V. Accumulation of pigments in *Dunaliella salina* cells with nitrogen, potassium and phosphorus deficiency in the culture medium. *Molekulyarnye, membrannye i kletochnye osnovy funktsionirovaniya biosistem: mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsiya; Trinadtsatyi s'ezd Belorusskogo obshchestvennogo ob'edineniya fotobiologov i biofizikov: tezisy dokladov (Belarus', Minsk, 27–29 iyunya 2018 goda)* [Molecular, membrane and cellular principles of the functioning of biosystems: international scientific conference; Thirteenth congress of the Belarusian Public Association of Photobiologists and Biophysicists: abstracts (Belarus, Minsk, June 27–29, 2018)]. Minsk, 2018, p. 127 (in Russian).

18. Loewus F., Murthy P. Myo-inositol metabolism in plants. *Plant Science*, 2000, vol. 150, no. 1, pp. 1–19. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(99\)00150-8](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(99)00150-8)

### Информация об авторе

Шальго Николай Владимирович – член-корреспондент НАН Беларуси, д-р биол. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikolai\_shalygo@yahoo.com

### Information about the author

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikolai\_shalygo@yahoo.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 577.117:547.915:633.8:631.8

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-171-181>

Поступила в редакцию 08.01.2020

Received 08.01.2020

**М. А. Бедуленко, В. В. Титок**

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ЭФИРНОГО МАСЛА МОНАРДЫ ДУДЧАТОЙ (*MONARDA FISTULOSA* L.)**

**Аннотация.** Изучен компонентный состав эфирного масла *Monarda fistulosa* L. при применении азотно-фосфорно-калийных (NPK) удобрений. Исследования проводились в 2011–2013 гг. в последовательно открывающихся полях на двух фонах – известкованном и известкованном. Эфирное масло отгоняли на аппарате Гинзберга. Компонентный состав определяли методом газовой хроматографии на хроматографе Agilent Technologies 7820 A. Рассматривалась динамика накопления некоторых компонентов ( $\gamma$ -терпинена, п-цимена, гераниола, линалоола, 1,8-цинеола, тимола и карвакрола) в онтогенезе. С увеличением доз NPK концентрации гераниола, 1,8-цинеола, тимола и карвакрола, как и многих вторичных метаболитов, на обоих фонах изменялись по M-образной кривой. Содержание  $\gamma$ -терпинена, п-цимена и линалоола в основном зависело от случайного фактора. На основе изменения концентраций выделенных компонентов по сравнению с контрольным и фоновым значениями составлены ранжированные ряды вариантов применения удобрений для выращивания монарды с целью ее переработки на эфирное масло, используемое в фармацевтической, пищевой и парфюмерно-косметической промышленности.

**Ключевые слова:** минеральные удобрения, известкование,  $\gamma$ -терпинен, п-цимен, гераниол, линалоол, 1,8-цинеол, тимол, карвакрол, онтогенез, эфирное масло, *Monarda fistulosa* L.

**Для цитирования:** Бедуленко, М. А. Влияние минеральных удобрений на компонентный состав эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / М. А. Бедуленко, В. В. Титок // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 171–181. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-171-181>

**Marina A. Bedulenko, Vladimir V. Titok**

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

## **THE INFLUENCE OF MINERAL FERTILIZERS ON THE COMPONENTS OF *MONARDA FISTULOSA* L. ESSENTIAL OIL**

**Abstract.** The results of study of the components of *Monarda fistulosa* L. essential oil under chemicals are shown. The experiment was made at the Central botanical garden of the National academy of sciences of the Republic of Belarus since 2011 till 2013. The research conditions involved using of nitrogen, phosphoric and potassium fertilizers on limed and nonlimed fields. Essential oil was determined in air-dry material with hydrodistillation method applying Ginsberg apparatus. The component composition of essential oil was investigated using chromatograph “Agilent Technologies 7820 A” with a flame ionization detector. Components those were important for quality of essential oil were studied in different stages of ontogenesis. Accumulation dynamics of  $\gamma$ -terpinen, p-cymene and linalool was depended on random factor. Accumulation of geraniol, 1,8-cineole, thymol and carvacrol was M-shaped curve under growth doses of mineral fertilizers. Ranked rows of the variants of fertilizer application on the basis of changes in mass fractions thymol, carvacrol, 1,8-cineole and geraniol were built. Analyzing of these data gives possible to grow *Monarda fistulosa* L. and to use its essential oil for pharmaceutical, food and perfumery-cosmetic industries.

**Keywords:** mineral fertilizers, limed,  $\gamma$ -terpinen, p-cymene, linalool, thymol, carvacrol, 1,8-cineole, geraniol, ontogenesis, essential oil, *Monarda fistulosa* L.

**For citation:** Bedulenko M. A., Titok V. V. The influence of mineral fertilizers on the components of *Monarda fistulosa* L. essential oil. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 171–181 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-171-181>

**Введение.** Изучение компонентного состава эфирного масла монарды, которое началось еще в 1980-е годы, показало, что в нем содержится более 40 компонентов [1–5].

Главными компонентами эфирного масла растений рода *Monarda*, в том числе монарды дудчатой, считаются тимол и карвакрол, содержание которых и определяет биологическую активность сырья.

В наших исследованиях методом газовой хроматографии было определено, что в эфирном масле монарды дудчатой, собранной в разные годы и в разные периоды вегетации, гераниол и 1,8-цинеол присутствуют в большем количестве, чем тимол и карвакрол. Это позволяет отнести данные образцы монарды к гераниольному хемотипу [2, 6, 7]. Кроме того, в эфирном масле монарды обнаружены и другие соединения из ряда монотерпенов, содержание которых превышало 0,1 %. Это  $\gamma$ -терпинен, п-цимен и линалоол, присутствие которых в достаточных количествах может существенно улучшать качество эфирного масла. По литературным данным можно проследить цепочку синтеза:  $\gamma$ -терпинен  $\rightarrow$ ... $\rightarrow$  п-цимен  $\rightarrow$ ... $\rightarrow$  тимол и/или карвакрол [7, 8].

По данным В. И. Тютюнник, С. И. Читао, З. Е. Машенко, О. К. Либуся, С. В. Федотова [9–13] и др., тимол и карвакрол обладают большим спектром действия: увеличивают степень адаптации организма, способствуют поддержанию уровня гемоглобина, подавляют активность гельминтов, грибов и бактерий, усиливают действие антибиотиков и репеллентных средств, могут использоваться как противоопухолевые средства, а также как средства, повышающие иммунитет и защищающие от лучевой болезни.

Идет постоянный поиск новых лекарственных противомикробных препаратов на основе эфирного масла монарды [14, 15]. Так, по данным В. В. Племенкова [16], синтезируемый из гераниола 1,8-цинеол обладает, так же как карвакрол и тимол, антисептическими свойствами, а G. Mazza с соавт. [2] указывают, что 1,8-цинеол широко используется не только в фармакологических препаратах, но и в продуктах питания (напитки, мороженое, конфеты, выпечка и жевательная резинка). В более поздних исследованиях авторами высказывается предположение, что большие концентрации обоих компонентов, тимола и карвакрола, могут приводить к раздражающему действию, так как они проявляют синергизм относительно друг друга, а повышенное содержание их предшественника, п-цимена, снижает бактерицидную активность эфирного масла или препаратов на его основе [13].

Присутствие или отсутствие некоторых компонентов в эфирном масле монарды важно не только для фармацевтики, но и для парфюмерно-косметических продуктов. Очищенный п-цимен и  $\gamma$ -терпинен имеют слабый цитрусовый аромат, но придают маслу специфический оттенок, снижающий качество запаха [13]. Тонкий цветочный аромат придает маслу линалоол [13], а наличие гераниола напоминает приятный аромат герани. В статье G. Mazza [2] упоминается, что последний компонент использовали в парфюмерной промышленности при производстве розовой эссенции, а также в пищевой промышленности как отдушку. Позже С. В. Федотовым [13] было доказано, что высокое содержание гераниола (более 80 %) в эфирном масле вызывает антигельминтный, репеллентный и эмбриотоксический эффект.

Цель исследования – изучение компонентного состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. при применении азотно-фосфорно-калийных удобрений.

**Материалы и методы исследования.** Для получения эфирного масла монарды дудчатой (рода *Monarda*, семейства Lamiaceae) и изучения его состава в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси в 2011–2013 гг. был проведен многофакторный полевой эксперимент на дерново-подзолистой супесчаной почве. Варианты опыта предполагали применение минеральных удобрений (аммиачной селитры, аммонизированного суперфосфата и хлористого калия – НРК) на двух фонах – неизвесткованном и с внесением мелиоранта (доломитовой муки) из расчета нейтрализации полной гидролитической кислотности: 1 – контроль; 2 –  $N_{40}P_{60}K_{90}$ ; 3 –  $N_{80}P_{60}K_{90}$ ; 4 –  $N_{120}P_{60}K_{90}$ ; 5 –  $N_{80}P_{30}K_{90}$ ; 6 –  $N_{80}P_{90}K_{90}$ ; 7 –  $N_{80}P_{60}K_{60}$ ; 8 –  $N_{80}P_{60}K_{120}$ ; 9 – мелиорант (фон); 10 – фон +  $N_{40}P_{60}K_{90}$ ; 11 – фон +  $N_{80}P_{60}K_{90}$ ; 12 – фон +  $N_{120}P_{60}K_{90}$ ; 13 – фон +  $N_{80}P_{30}K_{90}$ ; 14 – фон +  $N_{80}P_{90}K_{90}$ ; 15 – фон +  $N_{80}P_{60}K_{60}$ ; 16 – фон +  $N_{80}P_{60}K_{120}$ .

Агрохимические характеристики почвы участка:  $pH_{KCl}$  – 4,92, гумус – 2,73 % (по Тюрину), содержание подвижных форм фосфора и калия (по Кирсанову) – 198 и 136 мг/кг соответственно.

В первый год вегетации образцы отбирали в конце вегетационного периода (III декада сентября), когда единичные растения были в фазе бутонизации. Во второй год, когда растения монарды вступили в генеративный период, образцы отбирали по трем фазам: в фазу массовой бутонизации–начала цветения (II–III декада июня) (Ф1), в фазу массового цветения (I декада июля) (Ф2) и в фазу конца цветения (II–III декада июля) (Ф3).

Эфирное масло отгоняли из воздушно-сухого сырья на аппарате Гинзберга. Компонентный состав определяли методом газовой хроматографии на хроматографе Agilent Technologies 7820 А с пламенно-ионизационным детектором (FID) с использованием колонки HP-5 размером 30 м × 0,320 мм × 0,25 мкм при следующих температурных параметрах: 70 °С – 0–5 мин, повышение температуры до 115 °С со скоростью 3 °С/мин – 5–20 мин, 115 °С – 20–40 мин, повышение температуры до 200 °С со скоростью 4 °С/мин – 40–60 мин, 200 °С – 60–70 мин. В качестве газа-носителя использовали гелий. Давление на входе в колонку – 12 psi, объем вводимой пробы – 0,1 мкл.

**Результаты и их обсуждение.** Качественный состав эфирного масла монарды при внесении минеральных удобрений в первый год вегетации. Согласно результатам дисперсионного анализа, содержание  $\gamma$ -терпинена, п-цимена, линалоола более чем на 50 % зависело от случайного фактора и составило 1–1,9; 2,2–3,2 и 0,1–0,7 % соответственно. В образцах монарды концентрации гераниола и 1,8-цинеола превышали таковые остальных изучаемых компонентов, поэтому ее можно отнести к гераниольному хемотипу. В работе К. Keefover-Ring [6] приведены данные, что независимо от хемотипа накопление некоторых компонентов (в частности, п-цимена) сильно зависит от погодных условий конкретного года.

Содержание гераниола, тимола и карвакрола при известковании увеличилось относительно контроля на 17–47 % (табл. 1).

Таблица 1. Содержание компонентов эфирного масла монарды первого года вегетации (среднее за 2011–2012 гг.), %

Table 1. The content of *Monarda fistulosa* L. essential oil components during the first year grown (average for 2011–2012), %

Вариант	п-Цимен 1016* [17]	1,8-Цинеол 1035 [18, 19]	$\gamma$ -Терпинен 1058 [20]	Линалоол 1098 [18]	Гераниол 1255 [8]	Тимол 1292 [19–22]	Карвакрол 1306 [20, 21]
Контроль	3,2	42,4	1,4	0,5	21,3	4,0	3,8
N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	2,8	28,5	1,3	0,5	32,1	6,5	5,2
N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	3,1	53,0	1,2	0,7	19,1	2,5	3,7
N <sub>120</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	2,2	28,5	1,3	0,6	29,7	6,1	6,0
N <sub>80</sub> P <sub>30</sub> K <sub>90</sub>	2,5	35,5	1,2	0,4	31,0	5,5	4,7
N <sub>80</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	2,7	35,4	1,5	0,3	27,7	4,9	4,3
N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	2,6	34,6	1,3	0,6	22,0	2,9	2,5
N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>120</sub>	3,2	30,4	1,4	0,6	31,7	6,4	5,8
Мелиорант (фон)	2,6	42,7	1,4	0,6	24,9	5,9	4,6
Фон + N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	2,6	43,6	1,4	0,6	22,6	3,8	2,6
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	2,8	46,8	1,9	0,6	18,9	2,4	2,3
Фон + N <sub>120</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	2,4	38,9	1,8	0,6	24,3	3,8	3,8
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>30</sub> K <sub>90</sub>	2,3	36,9	1,5	0,4	28,5	4,2	4,1
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	2,7	25,5	1,6	0,5	27,0	5,2	4,1
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	2,9	38,3	1,4	0,6	19,2	2,9	1,9
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>120</sub>	3,0	37,9	1,4	0,7	25,0	5,3	2,9
НСР <sub>0,05</sub>	●	2,89	●	●	3,41	1,01	0,43

Примечание. ● – влияние случайного фактора более 50 %; \* – индексы удерживания Ковача, по которым были определены компоненты, соответствуют литературным данным [8, 17–22].

Согласно данным Е. В. Карпинской, А. А. Цыгановой [23], при меньшей дозе NPK количество некоторых компонентов эфирного масла увеличивается, при большей – снижается, а при дальнейшем повышении доз элементов питания – вновь растет.

С увеличением доз NPK на обоих фонах концентрация гераниола либо увеличивалась (на 14–51 %), либо оставалась неизменной, затем не изменялась или уменьшалась (до 24 %) и далее вновь могла увеличиться (на 30–49 %). Такой же характер накопления наблюдался и для концен-

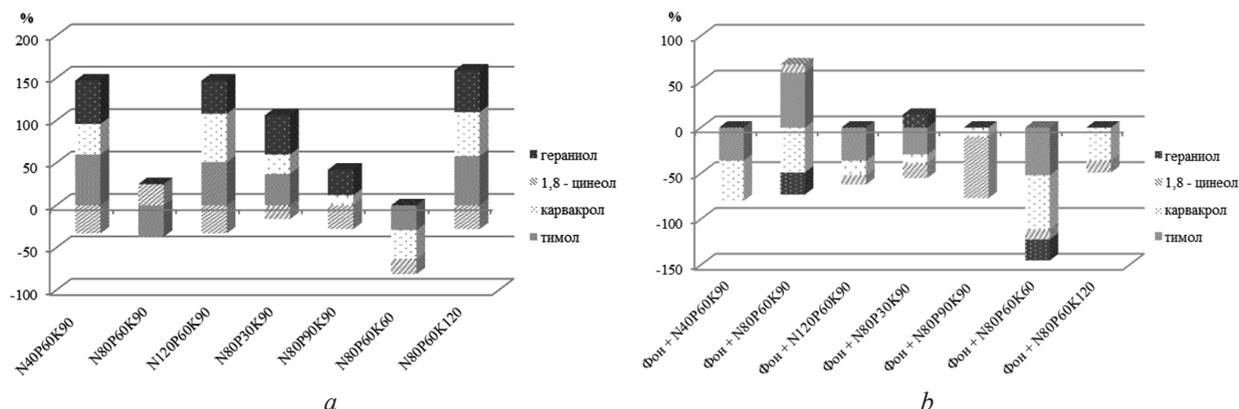


Рис. 1. Изменение концентрации компонентов эфирного масла монарды дудчатой первого года вегетации при применении NPK на известкованном (а) и известкованном (b) фоне, %

Fig. 1. The change in the concentration of the *Monarda fistulosa* L. essential oil components the first year growing season under using mineral fertilizers (NPK) on nonlimed (a) and limed (b) field, %

траций тимола и карвакрола. Изменение уровня тимола на обоих фонах было приблизительно одинаковым и составляло 96–97 %. Содержание карвакрола на известкованном фоне относительно фоновой вариации изменялось меньше (49 %), чем на известкованном (91 %), а 1,8-цинеола – наоборот (на известкованном – 58 %, на известкованном – 76 %). Содержание 1,8-цинеола было обратно пропорциональным концентрации гераниола.

Изменение массовой доли компонентов эфирного масла монарды при применении различных вариантов внесения NPK представлено на рис. 1.

В результате анализа изменений массовой доли компонентов и в зависимости от отрасли промышленности, где может использоваться эфирное масло монарды, были построены ранжированные ряды вариантов внесения минеральных удобрений.

Для фармацевтической промышленности важно содержание тимола, карвакрола и 1,8-цинеола, обладающих противовоспалительной и бактерицидной активностью [12]. В связи с этим были выбраны следующие варианты:

*известкованный фон:*

$N_{80}P_{60}K_{120} > N_{120}P_{60}K_{90} > N_{40}P_{60}K_{90} > N_{80}P_{30}K_{90} > N_{80}P_{60}K_{90} > N_{80}P_{90}K_{90} > N_{80}P_{60}K_{60}$ ;

*известкованный фон:*

фон +  $N_{80}P_{60}K_{90} > фон + N_{80}P_{60}K_{120} > фон + N_{80}P_{30}K_{90} > фон + N_{120}P_{60}K_{90} > фон + N_{80}P_{90}K_{90} > фон + N_{40}P_{60}K_{90} > фон + N_{80}P_{60}K_{60}$ .

Для пищевой промышленности ценными являются эфирные масла, в которых присутствуют компоненты, обладающие консервирующим действием [13] благодаря их высокой антирадикальной активности (тимол и карвакрол) [24], и в небольших количествах компоненты, придающие изделиям аромат, не характерный для пищевых изделий (гераниол) [2]. В результате выбраны варианты:

*известкованный фон:*

$N_{80}P_{90}K_{90} > N_{120}P_{60}K_{90} > N_{80}P_{30}K_{90} > N_{80}P_{60}K_{120} > N_{40}P_{60}K_{90} > N_{80}P_{60}K_{90}$ ;

*известкованный фон:*

фон +  $N_{80}P_{60}K_{90}$  (только один вариант).

Для парфюмерной и косметической промышленности важны компоненты эфирного масла, не только обладающие консервирующим действием, но и используемые в ароматерапии (гераниол) [2]. Поэтому были выбраны варианты:

*известкованный фон:*

$N_{40}P_{60}K_{90} > N_{80}P_{60}K_{120} > N_{80}P_{30}K_{90} > N_{120}P_{60}K_{90} > N_{80}P_{90}K_{90}$ ;

*известкованный фон:*

фон +  $N_{80}P_{30}K_{90} > фон + N_{80}P_{90}K_{90} > фон + N_{120}P_{60}K_{90} > фон + N_{80}P_{60}K_{120} > фон + N_{40}P_{60}K_{90}$ .

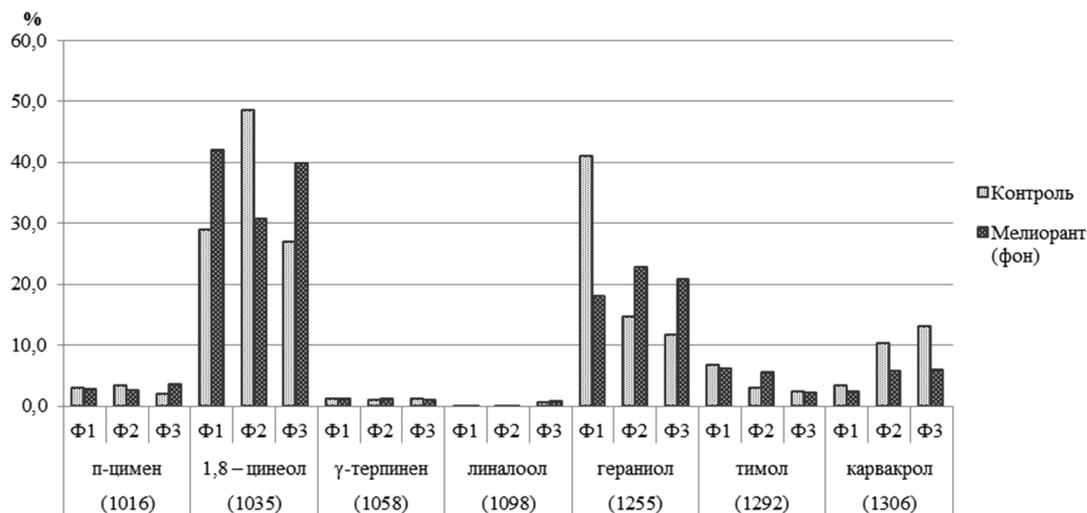


Рис. 2. Концентрация компонентов эфирного масла монарды второго года вегетации в онтогенезе (среднее за 2012–2013 гг.), %

Fig. 2. The concentration of *Monarda fistulosa* L. essential oil components during the second year grown (average for 2012–2013), %

Качественный состав эфирного масла монарды при внесении минеральных удобрений во второй год вегетации. Концентрации линалоола, п-цимена, γ-терпинена на обоих фонах не имели различий, так как фактор «фаза» не был значимым ( $p > 0,05$ ). В то же время массовые доли тимола, карвакрола, гераниола и 1,8-цинеола зависели от фактора «фаза» ( $p < 0,05$ ).

Изменение уровней накопления γ-терпинена, п-цимена и линалоола на обоих фонах по отношению к контрольному и фоновому вариантам не рассматривалось (влияние случайного фактора более 50 %), но их содержание, как и в первый год вегетации, по фазам было в пределах 0,8–1,4; 1,8–3,8 и 0,2–1,0 % соответственно (рис. 2), что, возможно, является хорошим показателем для использования монарды в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности.

Количество 1,8-цинеола и гераниола как на известкованном, так и на известкованном фоне в среднем за 2012–2013 гг. было больше, чем тимола и карвакрола, что подтверждает предположение о хемотипе данных образцов монарды дудчатой (рис. 2).

В динамике содержание тимола в основном увеличивается ко второй фазе на 83–347 % (известкованный фон) и 43–152 % (известкованный фон) (табл. 2). К третьей фазе наблюдается либо достоверное его снижение (на 32 и 13–79 %), либо увеличение (на 23–142 и 23–29 %) на соответствующих фонах.

Содержание карвакрола на известкованном фоне ко второй фазе снижалось на 32–50 %, а к третьей – увеличивалось до 396 % [3]. На известкованном фоне оно постепенно возрастало от фазы к фазе (на 44–333 и 16–108 % соответственно). Похожая зависимость в накоплении вторичных метаболитов в онтогенезе указана в работах О. В. Созинова и Г. Н. Бузука с соавт. [25, 26].

В среднем динамика накопления гераниола на обоих фонах была отрицательной. Наибольшее его количество наблюдалось в первую фазу. Содержание 1,8-цинеола либо увеличивалось ко второй фазе (11–39 и 31–60 %), либо оставалось неизменным, а к третьей фазе либо оставалось неизменным, либо вновь увеличивалось (9–57 и 20–82 %). Такая же тенденция была отмечена в работе А. Г. Шутовой [3].

Сравнительный анализ массовых долей 1,8-цинеола, гераниола, тимола и карвакрола показал, что в среднем за два года и суммарно по трем фазам вегетации внесение азотного удобрения  $N_{40-80-120}$  на известкованном фоне способствовало изменению количества 1,8-цинеола на +9...+31 %, на известкованном – на +14...+31 %; гераниола – на –66...–36 и –80...–40 %; тимола – на +43...+183 и –13...+138 %; карвакрола – на +104...+245 и +44...+416 % на соответствующих фонах.

Таблица 2. Содержание компонентов эфирного масла монарды второго года вегетации (среднее за 2012–2013 гг.), %

Table 2. The content of *Monarda fistulosa* L. essential oil components during the second year grown (average for 2012–2013), %

Вариант	Фаза	γ-Терпинен	п-Цимен	Тимол	Карвакрол	Гераниол	Линалоол	1,8-Цинеол
N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,2	3,1	5,7	3,2	29,1	0,8	26,2
	Ф2	1,0	2,3	10,5	4,2	19,4	0,3	27,5
	Ф3	1,2	2,1	13,8	5,4	13,1	0,5	29,3
N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,1	3,2	3,1	3,9	31,5	0,6	36,5
	Ф2	1,3	3,0	8,9	3,1	23,9	0,3	32,4
	Ф3	1,0	3,2	8,1	5,9	13,7	0,8	46,1
N <sub>120</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,0	2,6	1,9	4,3	27,8	0,8	36,3
	Ф2	1,1	3,3	5,8	2,6	24,2	0,4	38,0
	Ф3	0,8	3,8	3,9	2,9	18,6	0,4	41,3
N <sub>80</sub> P <sub>30</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,0	2,9	2,9	2,5	19,3	0,9	36,4
	Ф2	1,3	1,8	11,9	3,1	34,0	0,3	19,6
	Ф3	1,1	2,2	15,1	5,1	19,6	0,3	30,7
N <sub>80</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,0	2,6	3,0	7,0	34,2	0,5	31,7
	Ф2	0,8	3,5	8,1	3,5	22,6	0,5	33,2
	Ф3	0,9	3,1	9,9	9,7	19,6	0,3	34,6
N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	Ф1	1,1	2,3	1,8	11,9	23,3	0,4	28,4
	Ф2	1,0	3,1	8,0	8,1	24,4	0,8	32,4
	Ф3	1,2	3,1	7,4	8,8	20,5	0,7	28,5
N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>120</sub>	Ф1	1,2	2,6	10,5	2,3	33,6	1,0	22,5
	Ф2	1,3	3,0	4,0	12,4	25,6	0,4	31,1
	Ф3	1,1	2,4	9,8	10,7	26,9	0,5	28,8
HCP <sub>0,05</sub> фаз		–	–	1,04	1,01	2,66	–	2,64
Фон + N <sub>40</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	0,9	2,6	2,3	4,9	25,2	0,6	31,3
	Ф2	1,4	2,8	4,8	7,1	20,9	0,3	30,8
	Ф3	1,1	3,1	6,3	7,2	16,1	0,3	40,3
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,0	3,0	7,5	1,3	39,3	0,6	29,9
	Ф2	1,3	3,0	10,7	5,2	17,4	0,5	39,2
	Ф3	1,3	2,7	7,7	10,8	17,4	0,4	32,5
Фон + N <sub>120</sub> P <sub>60</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,0	2,8	5,3	3,7	29,6	0,6	38,2
	Ф2	1,0	2,9	5,5	7,7	19,8	0,6	41,2
	Ф3	1,0	2,7	4,7	6,6	10,5	0,3	49,3
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>30</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,3	3,0	5,4	2,0	30,6	0,6	29,8
	Ф2	1,1	3,2	12,9	2,2	21,7	0,2	30,0
	Ф3	0,8	2,5	16,0	2,6	18,7	0,6	21,0
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	Ф1	1,2	2,5	13,1	4,2	25,2	0,6	19,2
	Ф2	1,1	3,4	6,4	13,8	20,1	0,5	30,7
	Ф3	1,0	2,6	2,4	17,4	6,0	0,6	43,4
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	Ф1	1,1	2,4	8,4	2,5	21,9	0,9	25,1
	Ф2	1,0	3,1	2,7	10,9	21,3	0,7	33,2
	Ф3	1,2	3,0	1,8	12,7	26,7	0,2	33,5
Фон + N <sub>80</sub> P <sub>60</sub> K <sub>120</sub>	Ф1	1,2	3,0	3,8	2,8	30,8	0,6	39,5
	Ф2	1,3	3,2	9,7	10,2	20,4	0,5	21,9
	Ф3	1,1	2,5	2,0	9,4	16,2	0,7	39,8
HCP <sub>0,05</sub> фаз		–	–	0,69	0,94	2,06	–	3,09
HCP <sub>0,05</sub> вариант	Ф1	●	●	0,86	0,45	3,07	●	3,15
	Ф2	●	●	0,96	1,22	2,31	●	3,31
	Ф3	●	●	0,85	1,10	1,58	●	2,09

Примечание. ● – влияние случайного фактора более 50 %, «–» – влияние фактора «фаза» недостоверно.

При применении фосфорного удобрения P<sub>30-60-90</sub> на известкованном фоне количество 1,8-цинеола изменилось на 0...+31 %, на известкованном – на –30...+101 %; гераниола – на –67...+34 и –90...–43 %; тимола – на +95...+342 и –114...+162 %; карвакрола – на 0...+346 и 0...+253 % на соответствующих фонах.

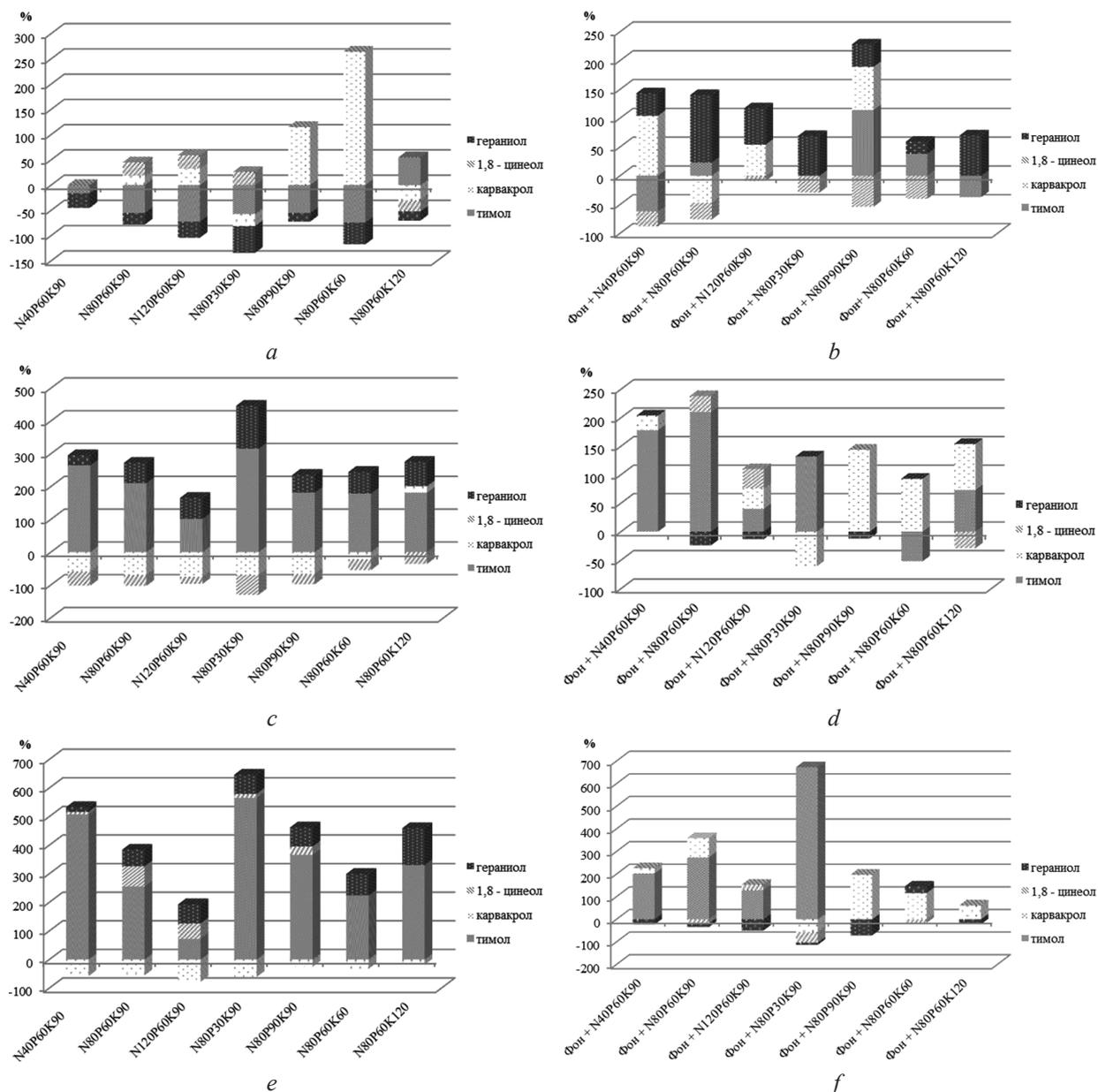


Рис. 3. Изменение содержания компонентов эфирного масла монарды дудчатой второго года вегетации (a, b – фаза массовой бутонизации – начала цветения; c, d – фаза массового цветения; e, f – фаза конца цветения) при применении NPK удобрений на известкованном (a, c, e) и известкованном (b, d, f) фонах, %

Fig. 3. The change in the concentration of the *Monarda fistulosa* L. essential oil components the second year growing season (a, b – vegetative phase; c, d – reproductive phase; e, f – ripening phase) under using mineral fertilizers (NPK) on nonlimed (a, c, e) and limed (b, d, f) field, %

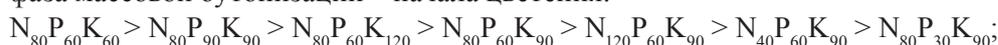
Калийное удобрение  $K_{60-90-120}$  на известкованном фоне привело к изменению массовой доли 1,8-цинеола на +2...+39 %, на известкованном – на +31...+37 %; гераниола – на -67...-16 и -56...+72 %; тимолы – на -112...+269 и -102...+73 %; карвакрола – на +25...+465 и +271...+416 % на соответствующих фонах.

На основании анализа относительных отклонений концентраций тимолы, карвакрола, 1,8-цинеола и гераниола от контрольного и фонового значений (рис. 3) для каждой фазы вегетации были получены ранжированные ряды.

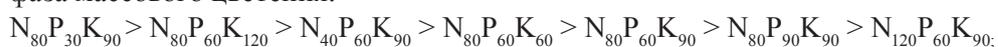
Для фармакологической промышленности ценным является эфирное масло, обладающее противовоспалительной и бактерицидной активностью [12], т. е. содержащее больше тимолы, карвакрола и 1,8-цинеола. С учетом фаз вегетации были выбраны следующие варианты:

*неизвесткованный фон:*

фаза массовой бутонизации – начала цветения:



фаза массового цветения:

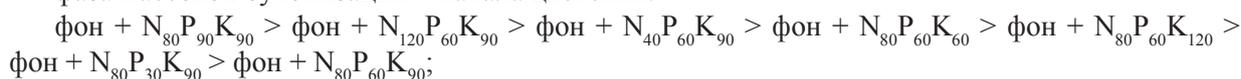


фаза конца цветения:

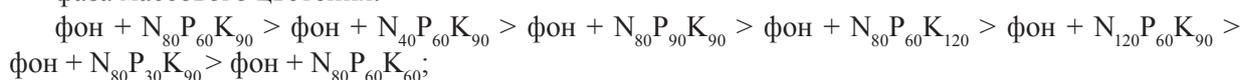


*известкованный фон:*

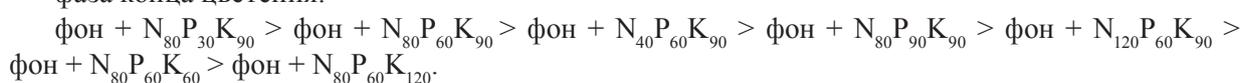
фаза массовой бутонизации – начала цветения:



фаза массового цветения:



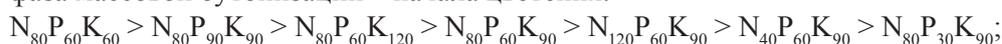
фаза конца цветения:



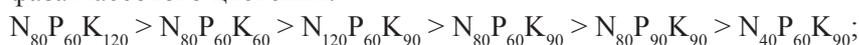
Для пищевых изделий важно присутствие компонентов, обладающих консервирующим действием [12] (например, тимол и карвакрол) и высокой антирадикальной активностью [24], в небольших количествах – компоненты, придающие изделиям аромат (например, гераниол). С учетом этого были выбраны следующие варианты:

*неизвесткованный фон:*

фаза массовой бутонизации – начала цветения:



фаза массового цветения:

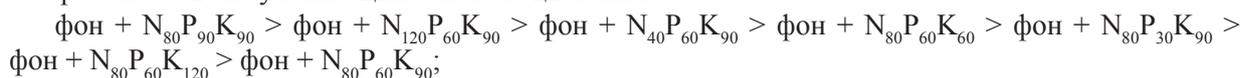


фаза конца цветения:

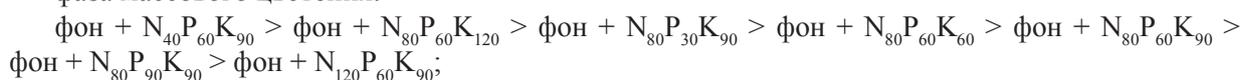


*известкованный фон:*

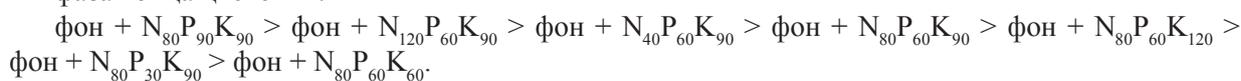
фаза массовой бутонизации – начала цветения:



фаза массового цветения:



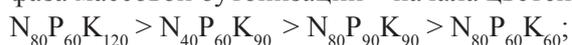
фаза конца цветения:



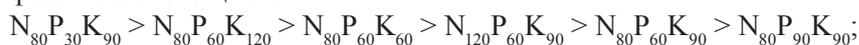
Для парфюмерной и косметической промышленности важны компоненты, используемые в ароматерапии (гераниол). С учетом этого были выбраны следующие варианты:

*неизвесткованный фон:*

фаза массовой бутонизации – начала цветения:



фаза массового цветения:

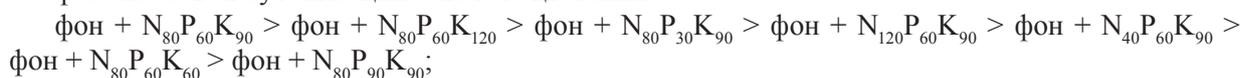


фаза конца цветения:



*известкованный фон:*

фаза массовой бутонизации – начала цветения:



фаза массовага цветення:

фон + N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>30</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>120</sub> > фон + N<sub>40</sub>P<sub>60</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>90</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>120</sub>P<sub>60</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>90</sub>;

фаза канца цветення:

фон + N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>30</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>40</sub>P<sub>60</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>90</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>120</sub>P<sub>60</sub>K<sub>90</sub> > фон + N<sub>80</sub>P<sub>60</sub>K<sub>120</sub>.

**Заклученне.** Уровні накоплення кампанентаў эфірнага масла монарды дудчатой адрозніваліся па гадах, што было абумоўлена як узроставым станам раслін, так і прымяняемымі ўдобрэннямі (вносене НРК на фоне меліоранта і без яго).

Пад уздзеяннем НРК ўдобрэнняў у першы год вегетацыі змест тымола на абодвух фонах змяняўся прыблізна аднакова, карвакрола – менш на известкованым фоне, а 1,8-цінеола – на неизвесткованым. Во другой год самае большае адхіленне па зместу за тры фазы назіралася ў тымола і карвакрола пры ўнесены як азотных, так і фосфорных і калійных ўдобрэнняў.

Значымае ўплыванне на працэсы сінтэзы  $\gamma$ -терпинена, п-цимена і ліналоола як у першы, так і во другой год вегетацыі аказаў выпадковы фактар. Кромэ таго, адрознення між фазамі па колькасці ліналоола, п-цимена,  $\gamma$ -терпинена на абодвух фонах не выяўлена.

Накопленне тымола ў асобах другога года ўзвычалася ко другой фазе на абодвух фонах, а к трэцяй назіралася дастойнае яго зніжэнне. Змест карвакрола, нааборот, на неизвесткованым фоне ў асноўным зніжалася ко другой фазе, а к трэцяй – ўзвычалася. Пры прымяненні меліоранта дынаміка накоплення была іная: ўзвычэнне канцэнтрацыі карвакрола ад фазы к фазе.

Масовая доля гераніола на абодвух фонах мела адрыцатэльную дынаміку – зніжалася ад фазы к фазе. Накопленне 1,8-цінеола не было столь аднозначным: канцэнтрацыя яго або ўзвычалася ко другой фазе, або асталася неизменнай, а к трэцяй фазе або асталася неизменнай, або вноў ўзвычалася.

В залежнасці ад абласці прымянення (фармацэўтычная, ежовая або парфюмерна-космецічная прамысловасць) пабудаваны ранжыраваныя рады варыянтаў ўнесены мінеральных ўдобрэнняў для вырошчвання монарды дудчатой з мэтай атрымання эфірнага масла.

### Спісок іспользаваных крыніц

1. Эфірныя масла некаторых відаў монарды і мяты / С. В. Баранова [і др.] // Біялагічныя актыўныя рэчывы плодовых, прыно-араматычных і дэкаратыўных раслін : сб. ст. / Гос. Никит. ботан. сад ; под ред. Ю. А. Акімова. – Ялта, 1981. – С. 42–50.
2. Mazza, G. Geraniol, linalool, thymol and carvacrol-rich essential oils from *Monarda hybrids* / G. Mazza, H. H. Marshall // J. Essent. Oil Res. – 1992. – Vol. 4, N 4. – P. 395–400. <https://doi.org/10.1080/10412905.1992.9698091>
3. Шутова, А. Г. Состав, свойства и применение фенольных и терпеновых соединений экстрактов и эфирных масел пряно-ароматических растений семейства Lamiaceae : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / А. Г. Шутова. – Минск, 2007. – 207 л.
4. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda Didyma* L., культивируемых в условиях Западной Сибири / Р. В. Опарин [и др.] // Химия раст. сырья. – 2000. – № 3. – С. 19–24.
5. Шанайда, М. І. Фітахімічнае даследаванне надземнай частіны Монарды трубкавай (*Monarda fistulosa* L.) / М. І. Шанайда // Фарм. журн. – 2010. – № 5. – С. 89–93.
6. Keefover-Ring, K. M. One chemistry, two continents: function and maintenance of chemical polymorphism in the mint family (*Lamiaceae*) : dissertation for degree of Ph. D. / K. M. Keefover-Ring. – Colorado, 2008. – 221 p.
7. Keefover-Ring, K. Chemotype distribution of monarda on City of Boulder Open Space and Mountain Parks Lands [Electronic resource] / K. Keefover-Ring. – University of Colorado: Department of Ecology and Evolutionary Biology, 2008. – Mode of access: [https://www-static.bouldercolorado.gov/docs/5017\\_KeefoverRing\\_Ken\\_Chemotype-1-201307091614.pdf](https://www-static.bouldercolorado.gov/docs/5017_KeefoverRing_Ken_Chemotype-1-201307091614.pdf). – Date of access: 20.02.2012.
8. Crocoll, C. Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450s in oregano and thyme : dissertation for degree of Ph. D. / C. Crocoll. – Jena, 2011. – 151 p.
9. Состав и бактерицидные свойства эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / В. И. Тютюнник [и др.] // Тр. Всесоюз. науч.-иссл. ин-та эфиромасл. культур. – Симферополь, 1982. – Т. 14 : Селекция, технология возделывания и переработки эфирносов. – С. 15–21.
10. Читао, С. И. Монарда – новое эфиромасличное и лекарственное растение / С. И. Читао, Е. Г. Крутенко // Бюл. ботан. сада им. Косенко. – 1998. – № 8. – С. 104–105.

11. Машенко, З. Е. Фитохимическое исследование и стандартизация тимолсодержащих растений семейства Яснотковых : автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / З. Е. Машенко ; Самар. гос. мед. ун-т. – Пермь, 2004. – 23 с.
12. Либусь, О. К. Монарда дудчатая *Monarda fistulosa* L. / О. К. Либусь // Эфиромасличные и пряно-ароматические растения / О. К. Либусь [и др.] ; под ред. Т. К. Ереминой. – Херсон, 2004. – С. 184–187.
13. Федотов, С. В. Эфирные масла видов *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes ex Lag., их хемотипы и биологическая активность / С. В. Федотов // Сб. науч. тр. Гос. Никит. ботан. сада. – 2015. – Т. 141. – С. 131–147.
14. Исследование антимикробной и противовоспалительной активности эфирных масел / Е. Н. Науменко [и др.] // Вестн. новых мед. технологий. – 2009. – Т. 16, № 3. – С. 32–34.
15. Науменко, Е. Н. Поиски альтернативных противомикробных препаратов / Е. Н. Науменко, Е. Т. Жилиякова, О. О. Новиков // Вестн. новых мед. технологий. – 2009. – Т. 16, № 1. – С. 187–188.
16. Племенков, В. В. Введение в химию природных соединений / В. В. Племенков. – Казань : КГМУ, 2001. – 376 с.
17. Список компонентов эфирных масел [Электронный ресурс]: Индексы удерживания компонентов эфирных масел. – Режим доступа : [http://viness.narod.ru/ret\\_ind.htm](http://viness.narod.ru/ret_ind.htm). – Дата доступа : 12.12.2016.
18. Зенкевич, И. Г. Аналитические параметры компонентов эфирных масел для их хроматографической хромато-масс-спектрометрической идентификации. Кислородсодержащие производные моно- и сесквитерпеновых углеводородов / И. Г. Зенкевич // Раст. ресурсы. – 1997. – Т. 33, N 1. – С. 16–27.
19. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under different growth conditions / E. de Falco [et al.] // *Molecules*. – 2013. – Vol. 18, N 12. – P. 14948–14960. <https://doi.org/10.3390/molecules181214948>
20. Мяделец, М. А. Исследование химического состава эфирных масел некоторых видов семейства Lamiaceae L., культивируемых в условиях Западной Сибири / М. А. Мяделец, Д. В. Домрачев, В. А. Черемушкина // Химия раст. сырья. – 2012. – № 1. – С. 111–117.
21. Зависимость состава эфирного масла *Monarda didyma* L. (Lamiaceae) от возраста растений и характера сырья / М. А. Мяделец [и др.] // Химия раст. сырья. – 2014. – № 1. – С. 215–219.
22. Azizi, A. Genetic, chemical and agro-morphological evaluation of the medicinal plant *Origanum vulgare* L. for marker assisted improvement of pharmaceutical quality : dissertation for degree of Ph. D. / A. Azizi. – Giessen, 2010. – 80 p.
23. Карпинская, Е. В. Влияние минерального питания на выход и компонентный состав эфирного масла базилика благородного и календулы лекарственной / Е. В. Карпинская, А. А. Цыганова // Вестн. Белорус. гос. с.-х. акад. – 2014. – № 2. – С. 78–81.
24. Шутова, А. Г. Антирадикальная активность эфирных масел и входящих в их состав терпеновых и фенольных соединений в различных средах / А. Г. Шутова // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2009. – № 4. – С. 5–10.
25. Созинов, О. В. Эколого-ценотические, фитохимические и ресурсные особенности популяций лекарственных растений северо-западной части Беларуси: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / О. В. Созинов ; Ин-т экспер. ботаники им. В. Ф. Купревича. – Минск, 2005. – 23 с.
26. Бузук, Г. Н. Универсальный характер М-образной зависимости между основным и специализированным обменом у лекарственных растений / Г. Н. Бузук, М. Я. Ловкова, С. М. Соколова // Вестн. фармации. – 2006. – № 1. – С. 23–33.

## References

1. Baranova S. V., Dorokhovskaya R. L., Kapelev I. G. Essential oils of some species of *Monarda* and *Mint*. *Biologicheski aktivnye veshchestva plodovykh, pryano-aromaticheskikh i dekorativnykh rastenii: sbornik statei* [Biologically active substances of fruit, aromatic and ornamental plants: collection of articles]. Yalta, 1981, pp. 42–50 (in Russian).
2. Mazza G., Marshall H. H. Geraniol, linalool, thymol and carvacrol-rich essential oils from *Monarda* hybrids. *Journal of Essential Oil Research*, 1992, vol. 4, no. 4, pp. 395–400. <https://doi.org/10.1080/10412905.1992.9698091>
3. Shutova A. G. *Composition, properties and use of phenolic and terpene compounds of extracts and essential oils of spicy – aromatic plants of the Lamiaceae family*. Ph. D. Thesis. Minsk, 2007. 207 p. (in Russian).
4. Oparin R. V., Pokrovskii L. M., Vysochina G. I., Tkachev A. V. Study of the chemical composition of the essential oil of *Monarda fistulosa* L. and *Monarda Didima* L. cultivated under conditions of Western Siberia. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2000, no. 3, pp. 19–24 (in Russian).
5. Shanaida M. I. Phytothermic study of the astronaut's part of the *Monarda tubular* (*Monarda fistulosa* L.). *Farmatsevtichnii zhurnal* [Pharmaceutical journal], 2010, no. 5, pp. 89–93 (in Russian).
6. Keefover-Ring K. *One chemistry, two continents: function and maintenance of chemical polymorphism in the mint family (Lamiaceae)*. Ph. D. Thesis. Colorado, 2008. 221 p.
7. Keefover-Ring K. *Chemotype distribution of monarda on City of Boulder Open Space and Mountain Parks Lands*. Available at: [https://www-static.bouldercolorado.gov/docs/5017\\_KeefoverRing\\_Ken\\_Chemotype-1-201307091614.pdf](https://www-static.bouldercolorado.gov/docs/5017_KeefoverRing_Ken_Chemotype-1-201307091614.pdf) (accessed 20 February 2012).
8. Crocoll Ch. *Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450s in oregano and thyme*. Ph. D. Thesis. Jena, 2011. 151 p.
9. Tyutyunnik V. I., Nikolaevskii V. V., Zal'tsfas A. A., Ivanov I. K., Sil'chenko N. N., Radchenko N. M., Kravets T. I. Composition and bactericidal properties of monarda essential oil (*Monarda fistulosa* L.). *Trudy Vsesoyuznogo nauchno-*

*issledovatel'skogo instituta efirmaslichnykh kul'tur. Tom 14. Seleksiya, tekhnologiya vozdeleyvaniya i pererabotki efironosov* [Proceedings of the All-Union Scientific Research Institute of essential oil crops. Volume 14: Selection, technology for the cultivation and processing of etheronos]. Simferopol, 1982, pp. 15–21 (in Russian).

10. Chitao S. I., Krutenko E. G. Monarda is a new essential oil and medicinal plant. *Byulleten' botanicheskogo sada imeni Kosenko* [Bulletin of the Kosenko Botanical Garden], 1998, no. 8, pp. 104–105 (in Russian).

11. Mashchenko Z. E. *Phytochemical study and standardization of thymol-containing plants of the family Lamiaceae*. Abstract of Ph. D. diss. Permian, 2004. 23 p. (in Russian).

12. Libus' O. K. Monarda duodenum *Monarda fistulosa* L. *Efiroaslichnye i pryano-aromaticheskie rasteniya* [Essential oil and spicy – aromatic plants]. Kherson, 2004, pp. 184–187 (in Russian).

13. Fedotov S. V. Essential oils of *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes ex Lag. species, their chemotypes and biological activity. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* [Collection of scientific papers of the State Nikitsky Botanical Garden], 2015, vol. 141, pp. 131–147 (in Russian).

14. Naumenko E. N., Zhilyakova E. T., Krichkovskaya L. V., Novikov O. O. The study of antimicrobial and anti-inflammatory activity of essential oils. *Vestnik novykh medicinskikh tekhnologii = Journal of new medical technologies*, 2009, vol. 16, no. 3, pp. 32–34 (in Russian).

15. Naumenko E. N., Zhilyakova E. T., Novikov O. O. Searches for alternative antimicrobials. *Vestnik novykh medicinskikh tekhnologii = Journal of new medical technologies*, 2009, vol. 16, no. 3, pp. 187–188 (in Russian).

16. Plemenkov V. V. *Introduction to the chemistry of natural compounds*. Kazan, Kazan State Medical University Publishing House, 2001. 376 p. (in Russian).

17. *Retention indices of essential oil components*. Available at : [http://viness.narod.ru/ret\\_ind.htm](http://viness.narod.ru/ret_ind.htm) (accessed 12 December 2016).

18. Zenkevich I. G. Analytical parameters of essential oil components for their chromatographic with chromatography-mass-spectrometric identification. Oxygen-containing derivatives of mono- and sesquiterpene hydrocarbons. *Rastitel'nye resursy* [Plant resources], 1997, vol. 33, no. 1, pp. 16–27 (in Russian).

19. De Falco E., Mancini E., Roscigno G., Mignola E., Tagliatela-Scafati O., Senatore F. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. *subsp. vulgare* L. under different growth conditions. *Molecules*, 2013, vol. 18, no. 12, pp. 14948–14960. <https://doi.org/10.3390/molecules181214948>

20. Myadelets M. A., Domrachev D. V., Cheremushkina V. A. The study of the chemical composition of essential oils of some species of the family Lamiaceae L. cultivated in the conditions of Western Siberia. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2012, no. 1, pp. 111–117 (in Russian).

21. Myadelets M. A., Domrachev D. V., Kriklivaya A. N., Vysochina G. I. The dependence of the composition of the essential oil *Monarda didyma* L. (Lamiaceae) on the age of plants and the nature of raw materials. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2014, no. 1, pp. 215–219 (in Russian).

22. Azizi A. *Genetic, chemical and agro-morphological evaluation of the medicinal plant Origanum vulgare L. for marker assisted improvement of pharmaceutical quality*. Ph. D. Thesis. Giessen, 2010. 80 p.

23. Karpinskaya E. V., Tsyganova A. A. The effect of mineral nutrition on the yield and the component composition of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Caléndula officinális*. *Vestnik Belorusskoi gosudarstvennoi sel'skokhozyaistvennoi akademii* [Bulletin of the Belarusian State Agricultural Academy], 2014, no. 2, pp. 78–81 (in Russian).

24. Shutova A. G. Antiradical activity of essential oils and their constituent terpene and phenolic compounds in various environments. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2009, no. 4, pp. 5–10 (in Russian).

25. Sozinov O. V. *Ecological-cenotic, phytochemical and resource features of the medicinal plant populations in the north-western part of Belarus*. Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 2005. 23 p. (in Russian).

26. Buzuk G. N., Lovkova M. Ya., Sokolova S. M. The universal nature of the M-shaped relationship between basic and specialized metabolism in medicinal plants. *Vestnik farmatsii* [Pharmacy bulletin], 2006, no. 1, pp. 23–33 (in Russian).

## Информация об авторах

*Бедуленко Марина Анатольевна* – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: M.Bedulenko@cbg.org.by

*Титок Владимир Владимирович* – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, директор. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Titok@cbg.org.by

## Information about the authors

*Marina A. Bedulenko* – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: M.Bedulenko@cbg.org.by

*Vladimir V. Titok* – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Director. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Titok@cbg.org.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 595.384.16:591.9 (282.247.28)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-182-190>

Поступила в редакцию 16.01.2020

Received 16.01.2020

**А. В. Алехнович, Д. В. Молотков, К. Сливинска**

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

**СОВРЕМЕННОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ РЕЧНЫХ РАКОВ  
(DECAPODA: ASTACIDAE, CAMBARIDAE) В ВОДОЕМАХ БАСЕЙНА РЕКИ НЕМАН  
НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ**

**Аннотация.** Изучены процессы распространения речных раков в водных объектах бассейна р. Неман и определены тенденции в изменении численности популяций. Установлено постепенное исчезновение популяций как широкопалого, так и длиннопалого раков, отмечена быстрая колонизация водоемов полосатым раком. Появление в последние годы полосатого рака в отдельных изолированных карьерах и озерах, куда он мог проникнуть только с помощью человека, указывает на необходимость активной просветительской работы среди местного населения с целью разъяснения пагубности переселения полосатого рака в новые места обитания. Для сохранения аборигенных видов рака в водных объектах бассейна р. Неман необходимо как можно быстрее провести работы по их расселению в водоемы и водотоки, недоступные для инвазивного полосатого рака, с целью создания новых популяций.

**Ключевые слова:** широкопалый рак, длиннопалый рак, полосатый рак, распространение, бассейн р. Неман

**Для цитирования:** Алехнович, А. В. Современное распространение речных раков (Decapoda: Astacidae, Cambaridae) в водоемах бассейна реки Неман на территории Беларуси / А. В. Алехнович, Д. В. Молотков, К. Сливинска // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 182–190. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-182-190>

**Anatoly V. Alekhovich, Dmitry V. Molotkov, Karolina Śliwińska**

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

**THE CURRENT DISTRIBUTION OF THE FRESHWATER CRAYFISH  
(DECAPODA: ASTACIDAE, CAMBARIDAE) IN THE NEMAN RIVER BASIN IN BELARUS**

**Abstract.** The trends in the distribution and occurrence of the freshwater crayfish in the water bodies of the Neman River basin are presents. It has been shown that both native species: the noble and the narrow-clawed crayfish are declined and/or are displaced with rapidly expanding its range the invasive spiny-cheek crayfish. In recent years the alien species was found in isolated gravel pits and lakes, where it could be transferred only by the human activity. These findings confirm the need of the education about the threats posed by the invasive species on the native biodiversity especially with the local community, which is an obligatory practice for protection the native species in the area expanded with non-native crayfish species. Further, to increase the likelihood of the local biodiversity conservation it is highly needed to undertake targeted actions aimed at resettling endangered populations into waterbodies unavailable for the invasive spiny-cheek crayfish expansion.

**Keywords:** noble crayfish, narrow-clawed crayfish, spiny-cheek crayfish, distribution, Neman River basin

**For citation:** Alekhovich A. V., Molotkov D. V., Śliwińska K. The current distribution of the freshwater crayfish (Decapoda: Astacidae, Cambaridae) in the Neman River basin in Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 182–190 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-182-190>

**Введение.** Раки из семейства Astacidae являются единственными аборигенными десятиногими раками, которые встречаются в Беларуси. Это бентосные животные, которые занимают определенную нишу и зависят от существующих в экосистеме условий, включая ее разнообразие и качество воды [1]. Особенно это касается широкопалого рака *Astacus astacus*, который является ключевым видом и биоиндикатором качества воды [2, 3].

В Беларуси встречается три вида речных раков: кроме широкопалого, широко распространены также длиннопалый *Pontastacus leptodactylus* и чужеродный инвазивный полосатый *Faxonius (Orconectes) limosus*.

Наиболее редкий из них, широкопалый рак, включен в Красную книгу Республики Беларусь (III категория охраны) [4], имеет высокий международный природоохранный статус – внесен в Красный список МСОП со статусом «уязвимый» [5], а также перечислен как охраняемый в Приложении III Бернской конвенции [6] и указан во II и V Приложениях Директивы 92/43/ЕЭС «Об охране природных мест обитания, дикой флоры и фауны» Европейского союза [7].

Длиннопалый рак в Беларуси является относительно многочисленным промысловым видом [9]. В водоемах Беларуси он является аборигенным видом, однако в странах Прибалтики его статус неясен, так как считается, что *P. leptodactylus* является восточным видом, а водные объекты бассейна Черного и Каспийского морей – его исконные места обитания [8]. В бассейне Балтийского моря длиннопалый рак встречается повсеместно, занимая те же места, что и широкопалый рак. На западе Беларуси кроме этих двух видов встречается и полосатый рак [9].

Водные объекты бассейна р. Неман являются местом обитания трех видов десятиногих ракообразных. Устойчивость популяции аборигенных видов, обитающих на этой территории, находится под угрозой, поскольку эти места активно осваивает чужеродный инвазивный полосатый рак. Для этого неаборигенного вида характерны быстрый рост, раннее половое созревание, высокая плодовитость и возможность размножения через партеногенез [10]. Это дает ему ряд преимуществ в конкурентной борьбе с аборигенными видами, но главный негативный эффект от его присутствия заключается в способности полосатого рака переносить рачью чуму [11]. Популяции широкопалого и длиннопалого раков погибают от рачьей чумы, в то время как особи полосатого рака болеют этим заболеванием в хронической форме и погибают только в том случае, если складываются неблагоприятные условия обитания по ряду факторов [12]. Следовательно, там, где встречается полосатый рак, аборигенные виды раков достаточно быстро исчезают.

Одной из наиболее крупных (после Днепра и Западной Двины) рек Беларуси является Неман. Площадь водозабора на территории Беларуси (с учетом водозабора р. Вилия) составляет больше 46 км<sup>2</sup>. Через Огинский канал р. Неман соединена с бассейном Днепра, через Августовский – с бассейном р. Висла [13].

Водные объекты бассейна р. Неман исследовали в течение ряда лет. Наиболее масштабно эта работа была проведена в июле–августе 2018 г., когда был обследован ряд озер и рек бассейна р. Неман в границах Гродненской области. Результаты исследований легли в основу данной статьи.

Цель работы – изучить процессы распространения речных раков в водных объектах бассейна р. Неман и определить современные тенденции в изменении численности популяций.

**Материалы и методы исследования.** Раков отлавливали раколовками, сачками и просто руками, используя маски и трубки.

Применяли раколовки двух типов. Первый тип представлял собою две мережи, соединенные вставку из дели длиной 2,5 м. Размер ячеек мереж – 16–22 мм. Ловушки использовали без приманки, а их работа была построена на следующем принципе: раки, двигаясь по дну, упирались в преграду из натянутой вставки из дели и, перемещаясь вправо или влево, попадали в ловушку. Встроенные конусы не препятствовали проникновению раков в ловушки, но эффективно предотвращали уход из них раков. Раколовки связывали в порядки по 4 штуки и при установке растягивали на кольях. В озерах, водохранилищах раколовки устанавливали в заросших заводях вдоль берегов на глубине до 4–5 м. Ловушки устанавливали, как правило, после полудня и снимали в первой половине следующего дня. Численность раков, пойманных с помощью ловушек, рассчитывали как количество раков на ловушку за сутки.

Второй тип – раколовки цилиндрической формы с боковыми конусовидными входами. Их применяли, используя приманки в виде свежей белой рыбы (плотва, карась и т. п.).

Кроме того, раков ловили с помощью сачков и руками в местах с обилием камней, коряг, корней прибрежных деревьев и других предметов, которые могут использоваться раками в качестве убежищ.

При определении размера раков замер производили от острия рострума до конца тельсона.

**Результаты исследования.** *Распространение широкопалого рака.* Данные по встречаемости широкопалого рака в водных объектах бассейна р. Неман приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Встречаемость широкопалого рака *Astacus astacus* в водных объектах бассейна р. Неман  
 Table 1. Occurrence of the noble crayfish *Astacus astacus* in the water bodies of the Neman River basin

Водоем	Улов, экз/лов. в сутки	Средняя длина (см) ± среднеквадратичное отклонение		Время обследования
		Самцы	Самки	
Р. Нарочанка	0,25	7,3 ± 2,4	8,5 ± 1,0	21.07.1995 [14]
Оз. Слободское	0,19	9,0 ± 1,1	8,3 ± 0,6	14.06.2000 (личные данные)
	–	9,0	–	9.07.2019 (личные данные)
Оз. Болдук	0,30	8,6 ± 1,1	7,1 ± 1,5	10.07.1995 [14]
Р. Смолка	–	10,1 ± 1,2	10,0 ± 1,2	8.07.1996 [14]
Оз. Рудаково	0,1	9,8 ± 2,0	9,9	12.07.1996 [14]
Пруд у ДЛ «Зубренок»	0,9	10,5 ± 1,0	10,2 ± 0,7	17.05.2011 (личные данные)
Карьер «Дачный» у д. Мороськи	0,7 ± 0,8	11,3 ± 1,4	10,8 ± 1,0	18.09.2012 [15]
	0,5 ± 0,8	9,2 ± 1,5	7,7 ± 1,4	01.11.2012 [15]
	3,11	9,1 ± 1,1	8,6 ± 1,0	24.04.2018 (личные данные)
Р. Исса у д. Вершки	–	9,3	–	06.1995 [14]
Р. Исса	Рак не обнаружен			19.06.2018 (личные данные)
Р. Зельвянка у д. Шейпичи	1,48	9,8 ± 1,1	8,5 ± 0,7	06.1995 [14]
Р. Зельвянка в 20 км выше Зельвенского вдхр.	Рак не обнаружен			9.07.2018 (личные данные)
Оз. Бездонное	0,08	10,5	–	22.06.1995 [14]
Карьер № 2 у г. п. Красносельский	–	10,6 ± 1,9	–	22.10.1997 [14]
	–	10,3 ± 1,7	–	30.08.2016 (личные данные)
	–	10,9 ± 0,6	6,4	12.07.2018 (личные данные)
Верховья р. Дитва у д. Ожелишки	–	–	8,8	27.06.2018 (личные данные)
Р. Ятранка у д. Ятра	–	6,7 ± 1,8	6,8	06.07.2018 (личные данные)
Оз. Тумское	–	14,4	–	30.06.2018 (личные данные)
Протока между озерами Туровейское и Золовское	–	9,3	–	01.07.2018 (личные данные)
Средняя длина		9,4 ± 1,3	8,9 ± 1,2	

Рассмотрим ряд мест обитания раков в НП «Нарочанский» – реки Нарочанка и Смолка, оз. Болдук, пруд у детского лагеря «Зубренок». В целом в НП «Нарочанский» численность широкопалого рака была достаточно высокой. Суточные уловы в большинстве случаев составляли 0,2–0,3 экз/лов. в сутки, а в пруду они были еще выше (табл. 1). Для краснокнижного вида такие высокие уловы достаточно необычное явление. Следует отметить наличие в 1996 г. широкопалого рака в оз. Рудаково, в котором наряду с широкопалым раком встречался и длиннопалый рак (5,5 % от общей численности). В 2018 г. в оз. Рудаково дайверами был обнаружен только длиннопалый рак. В конце прошлого века широкопалый рак регистрировали в р. Нарочанка от вытока из оз. Нарочь и практически по всей длине реки (75 км). С р. Нарочанкой протокой связано оз. Слободское, в котором широкопалый рак существует до сих пор, но его численность чрезвычайно низкая. Широкопалый рак встречается также на всем протяжении р. Смолка, которая связывает оз. Вишневецкое с оз. Свирь.

В 2012 г. широкопалый рак был обнаружен в старых карьерах кирпичного завода в Молодечненском районе в бассейне р. Уша (табл. 1). Раки встречаются в большинстве из 18 карьеров.

Нами основательно изучен карьер «Дачный», на берегах которого находились дачные домики садового товарищества. Нет сомнений, что в летне-осенний период раков достаточно активно вылавливают дачники, на что указывает снижение средних размеров особей к ноябрю в сравнении с сентябрем [15]. Несмотря на высокий эксплуатационный пресс, плотность раков в карьере «Дачный» за 6 лет увеличилась, поскольку уловы одной ловушкой к 2018 г. значительно возросли (табл. 1). Данную популяцию следует рассматривать как донорскую при проведении работ по расселению и созданию новых популяций широкопалого рака в бассейне р. Неман.

В Волковысском районе большое количество меловых карьеров, в которых встречаются и речные раки. Так, в 2018 г. в одном из меловых карьеров у г. п. Красносельский нами пойман полосатый рак. Также подтверждено обитание широкопалого рака в карьере № 2 (в этом карьере широкопалый рак регистрировался нами с ноября 1997 г.)

В ряде водных объектов бассейна р. Неман широкопалый рак уже не обнаруживается. В конце прошлого века этот вид встречался в верховьях р. Исса (приток р. Щара) в Барановичском районе, а в июне 2018 г. его уже там не регистрировали. Достаточно большие уловы широкопалого рака были в р. Зельвянка (табл. 1), но наряду с широкопалым в 1990-е годы в р. Зельвянка встречался и длиннопалый рак (4,0 % от общего количества выловленных раков). В июле 2018 г. в р. Зельвянка нами выявлен уже только полосатый рак.

В оз. Бездонное (бассейн р. Зельвянки) в 1995 г. наряду с большим количеством длиннопалого рака был пойман единственный экземпляр широкопалого рака, однако уже в 1996 г. этот вид в озере нами не регистрировался. В 2014 г. раков в оз. Бездонное вообще не обнаружено.

В ходе исследований, проведенных в 2018 г., выявлены неизвестные ранее места обитания раков. Широкопалый рак пойман в верховье р. Дитва (табл. 1). Отметим, что в месте впадения р. Дитва в р. Неман обнаружен полосатый рак, в р. Ятранка (приток р. Молчадь) в Новогрудском районе – широкопалый.

В Сорочанской группе озер широкопалый рак обнаружен в оз. Тумское (один экземпляр) и в протоке между озерами Туровейское и Золовское (один экземпляр). Такое малое количество отловленных раков в относительно чистых озерах указывает на то, что широкопалый рак в Сорочанской группе озер находится в депрессивном состоянии, возможно, из-за неблагоприятных для популяции изменений в водных экосистемах или хронической формы рачьей чумы, которая, как известно, может значительно снижать численность раков [16]. Но для постановки окончательного диагноза необходимо проведение молекулярно-генетических исследований.

Рассматриваемые популяции характеризуются малыми размерами особей, что может указывать на продолжающийся вылов раков из популяций, несмотря на то что вид включен в Красную книгу Республики Беларусь и его лов запрещен, но возможны и другие причины. Средний размер особей, обитающих в бассейне р. Неман, составляет порядка 9 см (табл. 1).

Таким образом, широкопалый рак, вид, включенный в Красную книгу Республики Беларусь, обнаружен в водных объектах НП «Нарочанский», в карьерах бассейна р. Уша. Реки НП «Нарочанский», в бассейне которых встречается широкопалый рак, а также р. Уша впадают в р. Вилию, которая уже на территории Литвы впадает в р. Неман. В бассейнах рек, которые впадают в р. Неман на территории Беларуси, широкопалый рак обнаружен в верховьях р. Дитва, в р. Ятранка и в Сорочанской группе озер. В большинстве мест обитания численность раков очень низкая, и только популяция из карьеров у д. Мороськи может рассматриваться как многочисленная.

*Распространение длиннопалого рака.* Данные о встречаемости длиннопалого рака в бассейне р. Неман приведены в табл. 2.

Длиннопалый рак широко представлен в водных объектах Беларуси, но в бассейне р. Неман, в границах от Гродненского до Ивьевского районов, он встречается в небольшом количестве. На современном этапе только оз. Молочное можно считать значительным ракопромысловым водоемом. В отмеченных границах длиннопалый рак продолжает встречаться в водохранилищах на малых реках бассейна р. Неман, но везде его численность небольшая. Выше по течению р. Неман (Ивьевский район) длиннопалый рак в промысловых значениях обнаружен в водохранилищах Лошанском и у д. Скоморошки.

Т а б л и ц а 2. Встречаемость длиннопалого рака *Pontastacus leptodactylus* в водных объектах бассейна р. НеманTable 2. Occurrence of narrow-clawed *Pontastacus leptodactylus* in the water bodies of the Neman River basin

Водоем	Улов, экз/лов. в сутки	Средняя длина (см) ± среднее квадратичное отклонение		Время обследования
		Самцы	Самки	
Оз. Б. Швакшты	0,14	–	13,5 ± 1,8	17.07.1996 [17]
	0,22	9,2 ± 0,4	10,4 ± 1,6	20.08.2004 (личные данные)
Оз. М. Швакшты	0,04	–	12,5 ± 1,6	11.07.1996 [17]
Оз. Кромань	1,5	9,1 ± 1,9	9,8 ± 1,4	14.07.1995 [17]
Р. Зельвянка у д. Шейпичи	0,08	8,7	–	24.06.1995 [17]
Р. Зельвянка в 20 км выше Зельвенского вдхр.	Раки не обнаружены			9.07.2018 (личные данные)
Оз. Кромань	1,5	9,1 ± 1,8	9,8 ± 1,4	14.07.1995 [17]
Оз. Кузьмичи	1,09 ± 1,18	9,2 ± 1,3	9,1 ± 1,0	12.07.1995 [17]
	2,80	10,4 ± 1,3	10,6 ± 1,1	18.07.1996 [17]
	0,95	10,6 ± 1,4	10,0 ± 1,4	18.07.1998 [17]
	0,06	–	7,7 ± 1,6	18.08.2004 (личные данные)
	Раки не обнаружены			17.05.2011 (личные данные)
Оз. Рудаково	–	–	14,3	12.07.1996 [17]
Оз. Бездонное	10,0	8,7 ± 0,9	8,5 ± 1,0	22.06.1995 [17]
	10,8	9,3 ± 1,1	8,6 ± 0,8	16.06.1996 [17]
	4,9	8,6 ± 1,2	7,8 ± 1,0	15.05.1997 [17]
	Раки не обнаружены			24.07.2014 (личные данные)
Вдхр. у д. Скоморошки на р. Жатеровка	0,31	10,3 ± 0,4	9,7 ± 1,1	31.07.2014 (личные данные)
Вдхр. на р. Драй у д. Понизья	–	12,3	–	19.09.2012 (личные данные)
Карьер Драй у оз. Белое на р. Вилия	0,11	11,1 ± 0,8	10,5 ± 0,1	22.08.2016 (личные данные)
Вдхр. Лошанское на р. Лоша	0,73 ± 0,44	13,2 ± 2,3	11,8 ± 1,1	9.10.2016 (личные данные)
	0,21 ± 0,13	10,8 ± 1,6	10,0 ± 3,0	26.10.2017 (личные данные)
Вдхр. у д. Галимщина	0,15	13,9	10,7 ± 0,8	27.06.2018 (личные данные)
Оз. Молочное	1,78	9,6 ± 1,3	8,9 ± 1,1	12.07.2018 (личные данные)
Вдхр. у д. Б. Можейково на р. Ищелнянка	–	12,4	10,6 ± 1,1	11.07.2018 (личные данные)
Р. Изовка у д. Петревичи	–	9,1 ± 0,1	9,8 ± 2,9	7.07.2018 (личные данные)
Р. Исса у д. Полонка	0,08	8,8	9,1 ± 1,1	19.06.2018 (личные данные)
Вдхр. Ордаши у д. Ровок на р. Ластоянка	–	8,9	–	(личные данные)
Средняя длина		9,9 ± 1,2	9,9 ± 1,5	(личные данные)

Средние размеры особей (самцов и самок) в популяциях длиннопалого рака водных объектов бассейна р. Неман несколько больше, чем особей широкопалого рака (табл. 2).

*Распространение полосатого рака.* Данные о встречаемости полосатого рака в бассейне р. Неман представлены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Встречаемость полосатого рака *F. limosus* в водных объектах бассейна р. Неман  
 Table 3. Occurrence of spinycheek crayfish *Faxonius limosus* in the water bodies of the Neman River basin

Водоем	Улов, экз/лов. в сутки	Средняя длина (см) ± среднее квадратичное отклонение		Дата обследования
		Самцы	Самки	
Р. Шлямица у д. Калеты	0,90	6,6 ± 1,6	6,3 ± 1,0	26.06.1997 [18]
	9,38	7,4 ± 0,7	7,5 ± 0,8	16.10.1997 [18]
Р. Марыха	–	6,4 ± 0,6	6,3 ± 0,5	17.10.1997 [18]
Р. Черная Ганча у д. Затишье	0,54	8,6 ± 0,8	7,1 ± 1,0	18.10.1997 [18]
Августовский канал	–	6,8 ± 0,4	7,5 ± 0,6	19.10.1997 [18]
Р. Неман (старница) у д. Демедково	0,55	8,6 ± 0,8	7,1 ± 1,0	21.10.1997 [18]
Р. Неман (район г. Мосты)	–	6,2 ± 0,4	5,9 ± 0,2	15.07.2010 [19]
Р. Неман (район г. Березовка)	0,03	9,9	–	8.09.2011 [19]
Августовский канал у р. Неман	0,53	8,2 ± 0,7	9,1 ± 0,9	5.09.2015 [20]
Р. Щара у д. Русаково	0,33	7,1 ± 1,4	–	5.06.2015 [20]
Р. Щара ниже г. Слонима	–	4,5 ± 1,0	5,0 ± 1,6	22.09.2015 [20]
Оз. Белое, карьер у р. Виля	0,03	6,3	–	21.08.2016 [20]
Р. Гавья, устье у р. Неман	0,42	9,1 ± 0,9	8,3	23.08.2016 [20]
Р. Рось у д. Волпа	0,25	9,1 ± 0,7	9,4 ± 1,0	25.08.2016 [20]
Г. п. Красносельский, карьер	–	7,3	–	10.08.2018 (личные данные)
Р. Свислочь у д. Конюхи	0,11	8,6	7,9 ± 0,6	26.06.2016 [20]
Р. Виля у д. Быстрица	0,12	8,9	–	(личные данные)
Р. Гавья у д. Шелути	–	7,7	8,3	(личные данные)
Р. Жижма у д. Гильвинцы	–	8,1	–	26.06.2018 (личные данные)
Карьер у д. Рожанка	–	6,8	–	7.08.2018 (личные данные)
Р. Турья у г. Щучин	–	6,1	–	12.07.2018 (личные данные)
Оз. Берштовское	0,31	8,2 ± 0,6	8, ± 1,4	15.07.2018 (личные данные)
Оз. Кавеня	–	7,6	–	14.08.2018 (личные данные)
Р. Оксна у г. Сморгонь	–	7,9	6,3	16.08.2018 (личные данные)
Р. Турья у г. Щучин	–	6,5	–	12.07.2018 (личные данные)
Вдхр. Альбертинское на р. Исса	0,16	8,4 ± 1,1	–	8.07.2018 (личные данные)
Р. Зельвянка, 20 км выше Зельвенского вдхр.	–	7,7 ± 2,2	–	9.07.2018 (личные данные)
Зельвенское вдхр.	2,2	8,3 ± 0,4	7,7 ± 0,9	10.07.2018 (личные данные)
Средняя длина		7,6 ± 1,2	7,3 ± 1,2	

Полосатый рак в бассейне р. Неман распространен главным образом в р. Неман и в притоках первого и второго порядка. Вид характеризуется малыми размерами и не имеет выраженной коммерческой ценности. Из-за способности переносить рачью чуму вид включен в Черную книгу животных Беларуси [21].

Средние размеры особей в водоемах бассейна р. Неман чуть больше 7 см и меньше размеров особей широкопалого и длинопалого раков (табл. 3).

**Обсуждение.** В бассейне р. Неман широкопалый рак представлен относительно небольшим количеством популяций в изолированных непроточных водоемах или в малых реках и протоках между озерами. Очевидно, такое распространение широкопалого рака обусловлено межвидовой конкуренцией с длинопалым раком, в результате которой первый вид проигрывает второму [9].

Процесс замещения широкопалого рака длиннопалым в целом достаточно медленный, но на современном этапе аборигенные виды раков достаточно быстро вытесняются инвазивным полосатым раком. Не выявлено ни одного случая совместного существования популяций полосатого рака и какого-либо из аборигенных видов в водных объектах бассейна р. Неман.

Широкопалый рак, как и длиннопалый, представлен немногочисленными популяциями, которые чаще встречаются в верхнем течении р. Неман и ее притоках. Такое распространение обусловлено тем, что бассейн р. Неман активно осваивает американский полосатый рак, что и приводит к постепенному замещению длиннопалого рака. За время наблюдений исчез длиннопалый рак из озер Бездонное, Кузьмичи и р. Зельвянка. Но если в р. Зельвянка нами обнаружен полосатый рак, то в озерах Бездонное и Кузьмичи раков вообще не выявлено. Отметим, что в непосредственной близости в р. Вилия находятся старые залитые водой карьеры (оз. Белое, карьер Драй), непосредственно связанные с р. Вилия. В 2016 г. в первом карьере (оз. Белое) нами обнаружен полосатый рак, в пару километрах выше против течения – длиннопалый рак.

Наиболее массовым видом речных раков в бассейне р. Неман является полосатый рак. Инвазивный вид *F. limosus* впервые обнаружен в бассейне р. Неман в реках Шлямица, Марыха и в Августовском канале в 1997 г. Этот вид расширяет свои места обитания со скоростью около 13 км в год [20].

Нет сомнения, что в оз. Берштовское он проник из р. Котра – притока р. Неман. Ранее полосатый рак не регистрировали в изолированных водоемах, не связанных водными артериями с р. Неман или ее притоками, но в 2018 г. полосатый рак обнаружен нами в оз. Кавеня (в 1997 г. его там не было), в карьерах возле д. Рожанка и в карьере в районе Красносельска. Проникнуть в изолированные водоемы он мог только с помощью человека, что указывает на необходимость активной просветительной работы среди местного населения с целью разъяснения пагубности переселения полосатого рака в новые места обитания.

По результатам исследования нами р. Неман и ее основных притоков, начиная от границы с Литвой и до впадения в Неман р. Гавья, не обнаружено совместных мест обитания полосатого рака и любого из аборигенных видов речных раков.

Особую опасность представляет появление полосатого рака в р. Вилия. В августе 2016 г. нами выловлен один полосатый рак в оз. Белое, которое несколькими протоками соединено с р. Вилия. В 2018 г. массовое появление полосатого рака зарегистрировано уже в черте г. Сморгонь (р. Оксна). В устье р. Нарочанка в 2016 г. полосатый рак не обнаружен. В 2018 г. работы по поиску полосатого рака в р. Нарочанка не проводились, но нет сомнений, что в скором будущем он там появится. А это значит, что полосатый рак заселит водные объекты НП «Нарочанский» и аборигенные виды раков будут исчезать с удвоенной скоростью.

**Заключение.** Таким образом, установлено, что аборигенные виды раков (широкопалый и длиннопалый) быстро исчезают из водных объектов бассейна р. Неман и на смену им приходит инвазивный чужеродный вид – полосатый рак. Для сохранения немногочисленных популяций широкопалого рака необходимо как можно быстрее провести работы по его расселению с целью создания новых популяций в малых реках и изолированных водоемах региона. При отсутствии раков в больших озерах и реках целесообразно вселять длиннопалого рака. Работы по реинтродукции необходимо проводить на постоянной основе.

**Благодарности.** Работы по изучению распространения и численности широкопалого рака в 2018 г. проведены при поддержке проекта ПРООН-ГЭФ «Устойчивое управление лесными и водно-болотными экосистемами для достижения многоценных преимуществ» («Ветландс»).

**Acknowledgements.** Work on the noble crayfish distribution and occurrence in 2018 was financially supported by the project UNDP/GEF entitled “Conservation-Oriented Management of Forests and Wetlands to Achieve Multiple Benefits” (“Wetlands”).

#### Список использованных источников

1. Füreder, L. Is *Austropotamobius pallipes* a good bioindicator? / L. Füreder, J. D. Reynolds // Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture. – 2003. – N 370–371. – P. 157–163. <https://doi.org/10.1051/kmae:2003011>
2. Nyström, P. Patterns in benthic food webs: a role for omnivorous crayfish? / P. Nyström, C. Brönmark, W. Granéli // Freshwater Biol. – 1996. – Vol. 36, N 3. – P. 631–646. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.d01-528.x>

3. Kouba, A. Bioaccumulation and effects of heavy metals in crayfish: a review / A. Kouba, M. Buřič, P. Kozák // *Water, Air, and Soil Pollution*. – 2010. – Vol. 211, N 1–4. – P. 5–16. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0273-8>
4. Алехнович, А. В. Широкопалый рак / А. В. Алехнович // Красная книга Республики Беларусь. Животные: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных; под ред. И. М. Качановского. – Минск, 2015. – С. 259–260.
5. *Astacus astacus* / L. Edsman [et al.] // The IUCN Red List of Threatened Species, 2010. – e.T2191A9338388. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T2191A9338388.en>
6. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats, Bern, 19.09.1979 // *Eur. Treaty Ser.* – 1979. – N 104. – 10 p.
7. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the Conservation of Natural Habitats and of Wild Fauna and Flora. European Commission // *Official J. Eur. Com.* – 1992. – N L206. – P. 7–50.
8. Kouba, A. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps / A. Kouba, A. Petrusek, P. Kozák // *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* – 2014. – N 413. – P. 05. <https://doi.org/10.1051/kmae/2014007>
9. Алехнович, А. В. Речные раки Беларуси в современных условиях: распространение, динамика численности, продукционно-промысловый потенциал / А. В. Алехнович. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 303 с.
10. A successful crayfish invader is capable of facultative parthenogenesis: a novel reproductive mode in decapod crustaceans / M. Buřič [et al.] // *PloS ONE*. – 2011. – Vol. 6, N 5. – P. e20281. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020281>
11. The old menace is back: recent crayfish plague outbreaks in the Czech Republic / E. Kozubíková [et al.] // *Aquaculture*. – 2008. – Vol. 274, N 2–4. – P. 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.015>
12. Holdich, D. M. The spiny-cheek crayfish, *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) [Crustacea: Decapoda: Cambaridae], digs into the UK / D. M. Holdich, J. Black // *Aquatic Invasions*. – 2007. – Vol. 2, N 1. – P. 1–15. <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2007.2.1.1>
13. Блакітны скарб Беларусі : энцыклапедыя : рэкі, азёры, водасховішчы, турысцкі патэнцыял водных аб'ектаў / Г. С. Жукоўская [і інш.]. – Мінск : Беларус. энцыкл., 2007. – 477 с.
14. Kulesh, V. F. Distribution and size structure of noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), populations in Belarus / V. F. Kulesh, A. V. Alekhnovich, S. Ablov // *Freshwater Crayfish*. – 1999. – Vol. 12. – P. 835–845.
15. Алехнович, А. В. Характеристика популяции широкопалого рака *Astacus astacus*, вида, занесенного в Красную книгу Республики Беларусь, в карьерах старого кирпичного завода / А. В. Алехнович, Д. В. Молотков // Зоологические чтения : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. памяти проф. И. К. Лопатина, Гродно, 14–16 марта 2013 г. / Гродн. гос. ун-т им. Я. Купалы ; редкол. : О. В. Янчуревич (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2013. – P. 26–29.
16. Taugbøl, T. Reintroduction of noble crayfish *Astacus astacus* after crayfish plague in Norway / T. Taugbøl // *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*. – 2004. – N 372–373. – P. 315–328. <https://doi.org/10.1051/kmae:2004006>
17. Alekhnovich, A. V. Growth and size structure of narrowclawed crayfish *Astacus leptodactylus* Esch. in its eastern area / A. V. Alekhnovich, V. F. Kulesh, S. E. Ablov // *Freshwater Crayfish*. – 1999. – Vol. 12. – P. 550–554.
18. The American spiny-cheek crayfish, *Orconectes limosus* (Rafinesque), in the fauna of Belarus / A. V. Alekhnovich [et al.] // *Crayfish in Europe as alien species: Crustacean* / ed. : F. Gherardi, D. M. Holdich. – Balkema, Rotterdam, 1999. – Iss. 11. – P. 237–242.
19. Alekhnovich, A. V. Distribution and rate of spread of spiny-cheek crayfish *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) in Belarus / A. V. Alekhnovich, V. I. Razlutskiy // *Bioinvasions Records*. – 2013. – Vol. 2, N 3. – P. 221–225. <http://dx.doi.org/10.3391/bir.2013.2.3.08>
20. Алехнович, А. В. Уверенная колонизация водных объектов Беларуси полосатым раком *Orconectes limosus* / А. В. Алехнович, Д. В. Молотков // Экологическая культура и охрана окружающей среды : II Дорофеевские чтения: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 29–30 ноября 2016 г. / Витеб. гос. ун-т ; редкол. : И. М. Прищеп (отв. ред.) [и др.] – Витебск, 2016. – С. 22–24.
21. Черная книга инвазивных видов животных Беларуси / А. В. Алехнович [и др.] ; под общ. ред. В. П. Семенченко. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 105 с.

## References

1. Füreder L., Reynolds J. D. Is *Austropotamobius pallipes* a good bioindicator? *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 2003, no. 370–371, pp. 157–163. <https://doi.org/10.1051/kmae:2003011>
2. Nyström P., Brönmark C., Granéli W. Patterns in benthic food webs: a role for omnivorous crayfish? *Freshwater Biology*, 1996, vol. 36, no. 3, pp. 631–646. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.1996.d01-528.x>
3. Kouba A., M. Buřič, Kozák P. Bioaccumulation and effects of heavy metals in crayfish: a review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2010, vol. 211, no. 1–4, pp. 5–16. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0273-8>
4. Alekhnovich A. V. The Noble Crayfish. *Red Book of the Republic of Belarus. Rare and endangered species of wild animals*. Minsk, 2015, pp. 259–260 (in Russian).
5. Edsman L., Füreder L., Gherardi F, Souty-Grosset C. *Astacus astacus*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 2010: e.T2191A9338388. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T2191A9338388.en>
6. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats, Bern, 19.09.1979. *European Treaty Series*, 1979, no. 104, 10 p.
7. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the Conservation of Natural Habitats and of Wild Fauna and Flora. European Commission. *Official Journal of the European Communities*, 1992, no. L206, pp. 7–50.

8. Kouba A., Petrusek A., Kozák P. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 2014, no. 413, p. 05. <https://doi.org/10.1051/kmae/2014007>
9. Alekhnovich A. V. *The river crayfishes of Belarus nowadays: distribution, population dynamics and production-trade potential*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016. 303 p. (in Russian).
10. Buřič M., Hulák M., Kouba A., Petrusek A., Kozák P. A successful crayfish invader is capable of facultative parthenogenesis: a novel reproductive mode in decapod crustaceans. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 5, p. e20281. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020281>
11. Kozubíková E., Petrusek A., Ďuriš Z., Martín M. P., Diéguez-Uribeondo J., Oidtmann B. The old menace is back: recent crayfish plague outbreaks in the Czech Republic. *Aquaculture*, 2008, vol. 274, no. 2–4, pp. 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.015>
12. Holdich D. M., Black J. The spiny-cheek crayfish, *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) [Crustacea: Decapoda: Cambaridae], digs into the UK. *Aquatic Invasions*, 2007, vol. 2, no. 1, pp. 1–15. <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2007.2.1.1>
13. Zhukoŭskaya G. S., Loginava A. U., Lopukh P. S., Makarevich A. A., Pirozhnik I. I., Rudakoŭski I. A. [et al.]. *Blue treasure of Belarus: encyclopedia: rivers, lakes, reservoirs, and their tourist potential*. Minsk, Belaruskaya entsyklapedyya Publ., 2007. 477 p. (in Belarusian).
14. Kulesh V. F., Alekhnovich A. V., Ablov S. E. Distribution and size structure of noble crayfish, *Astacus astacus* (L.), populations in Belarus. *Freshwater Crayfish*, 1999, vol. 12, pp. 835–845.
15. Alekhnovich A. V., Molotkov D. V. Population characteristics of the noble crayfish *Astacus astacus*, the species enlisted in the Red Book of the Republic of Belarus, from the quarries of an old brick factory. *Zoologicheskie chteniya: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi pamyati professora I. K. Lopatina (Grodno, 14–16 marta 2013 goda)* [Zoological readings: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the memory of Professor I. K. Lopatin (Grodno, March 14–16, 2013)]. Grodno, 2013, pp. 157–163 (in Russian).
16. Taugbøl T. Reintroduction of noble crayfish *Astacus astacus* after crayfish plague in Norway. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 2004, no. 372–373, pp. 315–328. <https://doi.org/10.1051/kmae:2004006>
17. Alekhnovich A. V., Kulesh V. F., Ablov S. E. Growth and size structure of narrowclawed crayfish *Astacus leptodactylus* Esch. in its eastern area. *Freshwater Crayfish*, 1999, vol. 12, pp. 550–554.
18. Alekhnovich A. V., Ablov S. E., Kulesh V. F., Pareiko O. A. The American spiny-cheek crayfish, *Orconectes limosus* (Rafinesque), in the fauna of Belarus. *Crayfish in Europe as alien species: Crustacean. Iss. 11*. Balkema, Rotterdam, 1999, pp. 237–242.
19. Alekhnovich A. V., Razlutskiy V. I. Distribution and rate of spread of spiny-cheek crayfish *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) in Belarus. *Bioinvasions Records*, 2013, vol. 2, no. 3, pp. 221–225. <http://dx.doi.org/10.3391/bir.2013.2.3.08>
20. Alekhnovich A. V., Molotkov D. V. The aggressive colonization of water bodies by spiny cheek crayfish *Orconectes limosus* in Belarus. *Ekologicheskaya kul'tura i okhrana okruzhayushchei sredy: II Dorofeevskie chteniya: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 29–30 noyabrya 2016 goda)* [Ecological culture and environmental protection: II Dorofeev Readings: proceedings of the International scientific and practical conference (Vitebsk, November 29–30, 2016)]. Vitebsk, 2016, pp. 22–24 (in Russian).
21. Alekhnovich A. V., Buga S. V., Drobenkov S. M., Zhorov D. G., Makarenko A. I., Petrov D. L. [et al.]. *Black Book of Belarus invasive species of animals*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016. 105 p. (in Russian).

## Информация об авторах

Алехнович Анатолий Васильевич – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь) E-mail: [alekhnovichav@gmail.com](mailto:alekhnovichav@gmail.com)

Молотков Дмитрий Васильевич – науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dmolotkov48@mail.ru](mailto:dmolotkov48@mail.ru)

Сливинска Каролина – магистр биол. наук, мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [karolina.sliwinska@outlook.com](mailto:karolina.sliwinska@outlook.com),

## Information about the authors

Anatoly V. Alekhnovich – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Scientific and Practical Center for Biological Resources of the National Academy of Sciences (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [alekhnovichav@gmail.com](mailto:alekhnovichav@gmail.com)

Dmitry V. Molotkov – Researcher. Scientific and Practical Center for Biological Resources of the National Academy of Sciences (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dmolotkov48@mail.ru](mailto:dmolotkov48@mail.ru)

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

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 581.14581.1.03  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-191-198>

Поступила в редакцию 26.12.2019  
Received 26.12.2019

Е. Л. Недведь<sup>1</sup>, Ж. Н. Калацкая<sup>1</sup>, Н. А. Ламан<sup>1</sup>, В. В. Минкова<sup>1</sup>, К. М. Герасимович<sup>1</sup>,  
И. А. Овчинников<sup>1</sup>, Н. А. Копылова<sup>1</sup>, И. И. Филатова<sup>2</sup>, В. А. Люшкевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПЛАЗМЕННОЙ И РАДИОВОЛНОВОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРОРОСТКОВ

**Аннотация.** Установлено, что обработка семян клевера лугового высокочастотным (ВЧ) электромагнитным полем и ВЧ плазмой, возбуждаемой на частоте 5,28 МГц при давлении 200 Па, оказывает стимулирующее действие как на прорастание семян, так и на рост и развитие растений, выращенных в лабораторных и полевых условиях. При плазменной обработке длительностью 5 мин наблюдается наибольший эффект – повышение энергии прорастания и всхожести семян, значительное возрастание биомассы побегов и корней. В то же время содержание фенольных соединений и флавоноидов в листьях растений снижается.

**Ключевые слова:** высокочастотное электромагнитное поле, холодная плазма, прорастание семян, клевер луговой, рост и развитие растений, фенольные соединения, флавоноиды

**Для цитирования:** Стимулирующее действие плазменной и радиоволновой обработки семян клевера лугового на морфофизиологические параметры проростков / Е. Л. Недведь [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 191–198. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-191-198>

Helen L. Nedved<sup>1</sup>, Joanna N. Kalatskaja<sup>1</sup>, Nikolai A. Laman<sup>1</sup>, Victioria V. Minkova<sup>1</sup>, Kanstantsin M. Herasimovich<sup>1</sup>,  
Igor A. Ovchinnikov<sup>1</sup>, Natalia A. Kopylova<sup>1</sup>, Irina I. Filatova<sup>2</sup>, Veronika A. Lyushkevich<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## STIMULATING EFFECTS OF PLASMA AND RADIO-WAVE TREATMENTS OF RED CLOVER SEEDS ON MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF SEEDLINGS

**Abstract.** It was established that the treatment of clover seeds with radio frequency (RF) electromagnetic field and low pressure (200 Pa) RF plasma excited at a frequency of 5.28 MHz has a stimulating effect both on the germination of seeds and on the growth and development of plants grown in laboratory and field conditions. Plasma treatment for 5 min led to the greatest stimulation of seed germination and germination energy, a significant increase in the biomass of shoots and roots. At the same time, the content of phenolic compounds and flavonoids in plant leaves decreased.

**Keywords:** high-frequency electromagnetic fields, cold plasma, germination of seeds, red clover, total phenolics, flavonoids

**For citation:** Nedved H. L., Kalatskaja J. N., Laman N. A., Minkova V. V., Herasimovich K. M., Ovchinnikov I. A., Kopylova N. A., Filatova I. I., Lyushkevich V. A. Stimulating effects of plasma and radio-wave treatments of red clover seeds on morphological and physiological parameters of seedlings. *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 191–198 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-191-198>

**Введение.** В последние годы для обработки различных биологических объектов, в том числе семенного растительного материала, все большее распространение получают технологии на основе плазменных, плазменно-пучковых, микро- и радиоволновых методов воздействия. Многочисленные исследования свидетельствуют об активной ответной реакции растений (как на молекулярном и клеточном уровне, так и на уровне организма) на обработку семян холодной плазмой и электромагнитными полями [1–5], что проявляется, в частности, в изменении состава и содержания вторичных метаболитов [6], в том числе фенольных соединений [7]. Таким образом, воздействие физических факторов на семена может рассматриваться как перспективный метод модуляции накопления растениями вторичных метаболитов для получения биологически активных веществ растительного происхождения.

Цель данной работы – исследование особенностей прорастания семян, ростовых процессов и определение содержания вторичных метаболитов в растениях клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) в лабораторных и полевых условиях в ответ на предпосевную плазменно-радиоволновую обработку. Клевер луговой, многолетнее травянистое растение семейства бобовых, является естественным источником изофлавоноидов – фитоэстрагенов биоханина А и формононетина, что обеспечивает его широкое применение в медицине. Кроме того, клевер луговой используется в растениеводстве как кормовая культура и способствует обогащению почвы азотом.

**Объекты и методы исследования.** В качестве объекта исследований были выбраны растения клевера лугового сорта Лев (семена урожая 2016 г.), семена которых подвергали обработке высокочастотным (ВЧ) электромагнитным полем (ЭМП) и плазмой ВЧ разряда. Обработку осуществляли на экспериментальной установке Института физики НАН Беларуси, позволяющей возбуждать как ВЧ ЭМП на частоте 5,28 МГц, так и плазмой ВЧ разряда на той же частоте. Подробное описание установки приведено в [8]. Режимы обработки семян были выбраны экспериментально, а также исходя из данных, полученных авторами ранее при исследовании плазменно-радиоволнового воздействия на семена ряда других многолетних и однолетних культур [4–6, 8]. Плазменную обработку осуществляли в воздухе при давлении 200 Па и вкладываемой в разряд удельной мощности порядка 0,025 Вт/см<sup>3</sup>. Обработку ЭМП проводили при атмосферном давлении путем помещения кассеты с образцами семян в центральную зону индуктора. Значения интенсивности, а также напряженности электрической и магнитной составляющих ЭМП в зоне воздействия соответствовали данным, приведенным в работе [6]. Время воздействия плазмы и ЭМП составляло 5 и 10 мин соответственно.

Закладку семян на прорастание осуществляли через 10 дней после их обработки. В качестве контроля использовали необработанные семена клевера. В лабораторных условиях растения выращивали при освещенности 4 тыс. лк (режим освещения – 14 ч света, 10 ч темноты) до стадии появления настоящего тройчатого листа. В полевых условиях закладывали мелкоделяночный опыт на экспериментальной площадке Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Морфологические и биохимические показатели растений оценивали в фазу формирования 1–2 тройчатых листьев.

Энергию прорастания и всхожесть семян клевера в лабораторных условиях определяли согласно ГОСТу [9], удельную электропроводность водных вытяжек из семян – кондуктометрическим способом [10, 11]. Для биохимических анализов использовали 70 %-ные спиртовые экстракты из листьев клевера. Суммарное содержание фенолов определяли спектрофотометрически по методу Фолина–Чокалтеу [12]. Для измерения общего содержания флавоноидов использовали спектрофотометрический метод с применением хлорида алюминия [13]. Стандартом для определения общего содержания фенолов и флавоноидов служил рутин (мг эквивалента рутина/г сырой массы). Содержание фотосинтетических пигментов измеряли с использованием метода, изложенного в [14].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью общепринятых методик [15]. На диаграммах приведены средние значения показателей с указанием стандартной ошибки средней арифметической. В статье приведены значения, достоверные при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Прорастание семян клевера оценивали по показателям энергии прорастания, всхожести и удельной электропроводности водных вытяжек из семян. Показано, что плазменно-радиоволновая обработка семян оказывает стимулирующее действие на начальных этапах роста: энергия прорастания возрастала на 15 % по сравнению с контролем в случае обработки ЭМП и на 35 % при обработке плазмой. Всхожесть контрольных семян клевера составила  $81 \pm 1,72$  %, при обработке ЭМП и плазмой –  $86 \pm 0,83$  и  $82 \pm 1,75$  % соответственно (рис. 1).

Обработка способствовала также возрастанию (в среднем на 30 %) удельной электропроводности водных вытяжек из семян клевера (рис. 2).

Удельная электропроводность водных вытяжек из семян характеризует целостность семенных оболочек и плазматических мембран клеток, а ее возрастание для большинства семян свидетельствует о снижении их качества. Известно, что посевной материал многолетних бобовых трав содержит много твердокаменных семян, отличающихся особым строением семенной обо-

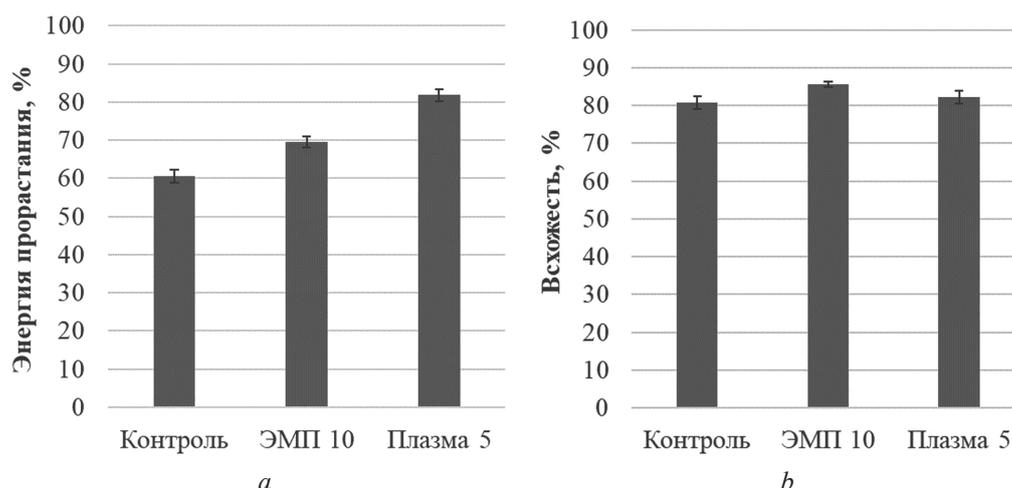


Рис. 1. Влияние плазменной и радиоволновой обработки на энергию прорастания (а) и всхожесть (b) семян клевера

Fig. 1. The effect of plasma and radio wave treatments of clover seeds on the seed vigour (a) and germination (b)

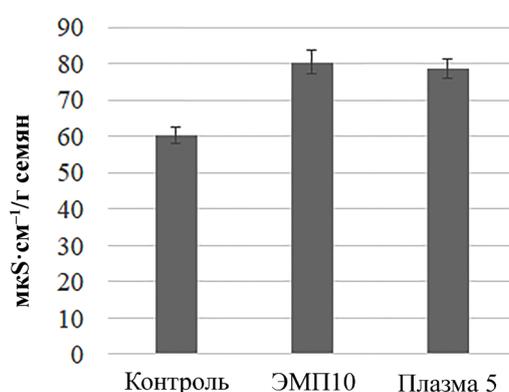


Рис. 2. Удельная электропроводность водных вытяжек из семян клевера, подвергшихся плазменной и радиоволновой обработке

Fig. 2. Effect of plasma and radio-wave treatments on electrical conductivity of clover seeds leachate

лочки, задерживающей доступ воды и воздуха к зародышу [16]. Одной из причин ускорения прорастания твердокаменных семян клевера, подвергшихся плазменной обработке, может быть нарушение герметичности семенной оболочки. Кроме того, как показано в [17], воздействие плазмы и ЭМП также способствует изменению баланса фитогормонов, контролирующих процесс прорастания и рост проростков на начальном этапе.

Обработка семян способствовала увеличению длины побега у растений на 13 % (при обработке ЭМП) и на 22 % (при обработке плазмой) по сравнению с контролем (рис. 3, а), масса побега увеличивалась на 34 и 51 % соответственно (рис. 3, б).

В полевых условиях биометрические показатели растений клевера, выращенного из обработанных семян, также существенно изменялись по сравнению с контрольными растениями. Длина корней увеличивалась на 27 %, а побега – на 57 % при обработке семян плазмой, при обработке ЭМП длина побега возрастала на 11 % по сравнению с контролем (рис. 4, а). Значительно увеличивалась и масса корней – в 1,5 раза по сравнению с необработанными растениями в варианте ЭМП и в 2,5 раза в варианте с плазмой (рис. 4, б). Масса побега возрастала в 1,5 раза при обработке семян ЭМП и в 2,5 раза при обработке семян плазмой (рис. 4, б).

Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a + b* и каротиноидов) в листьях клевера, выращенного в лабораторных и полевых условиях после обработки семян ЭМП и плазмой, находилось в пределах значений, характерных для контрольных растений (рис. 5).

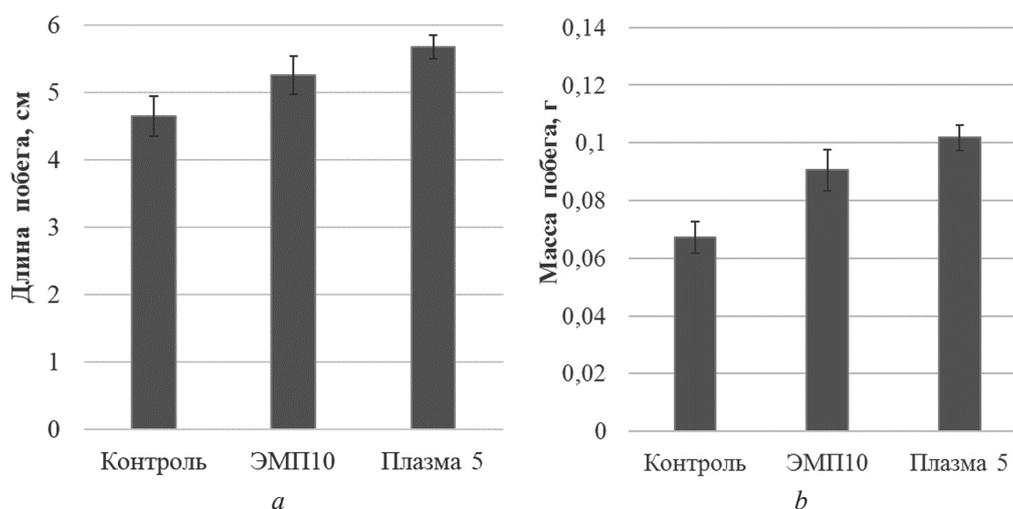


Рис. 3. Влияние плазменной и радиоволновой обработки семян на длину (а) и массу (b) проростков клевера, выращенных в лабораторных условиях

Fig. 3. The effect of plasma and radio wave seed treatments on the biometric parameters (a – shoot length, b – shoot mass) of clover plants in laboratory conditions

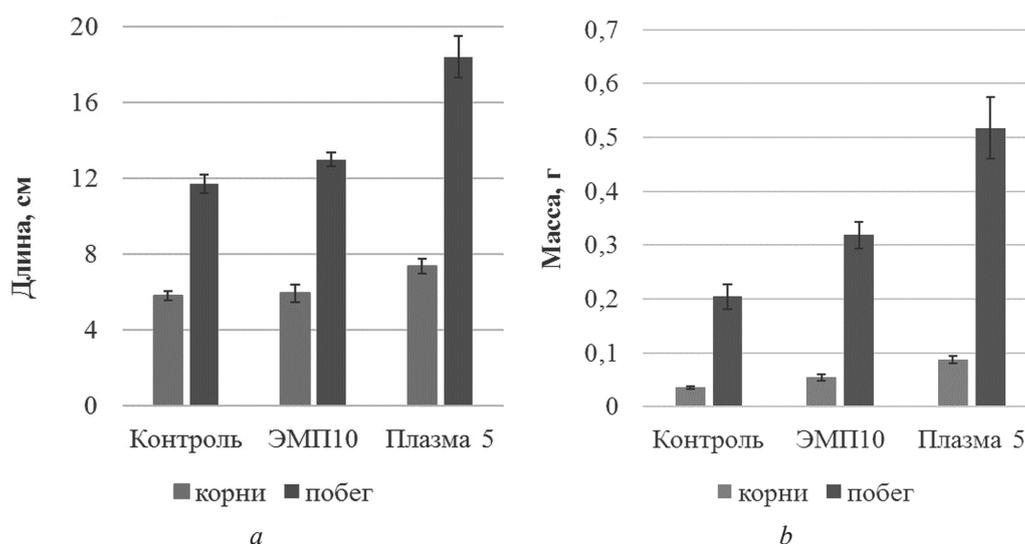


Рис. 4. Влияние плазменной и радиоволновой обработки семян на биометрические показатели растений клевера, выращенного в полевых условиях

Fig. 4. The effect of plasma and radio wave seed treatments on the biometric parameters of clover plants in the field conditions

В листьях растений из семян, обработанных плазмой и выращенных в лабораторных условиях, суммарное содержание фенольных соединений не изменялось, но наблюдалась тенденция к снижению общего содержания флавоноидов на 13 % по сравнению с аналогичным показателем у контрольных растений. Содержание фенольных соединений в листьях растений при обработке семян ЭМП увеличивалось на 11 % относительно контроля, однако не было достоверных различий по содержанию флавоноидов (рис. 6, а).

В листьях растений, выращенных в полевых условиях из обработанных плазмой семян, также отмечалось снижение уровня флавоноидов и фенольных соединений – на 31 и 27 % соответственно. Достоверных различий по указанным выше показателям в растениях после воздействия ЭМП и в контроле не наблюдалось (рис. 6, б).

Таким образом, установлено, что плазменно-радиоволновая обработка семян приводит к существенному увеличению активности ростовых процессов клевера лугового на стадии формирования

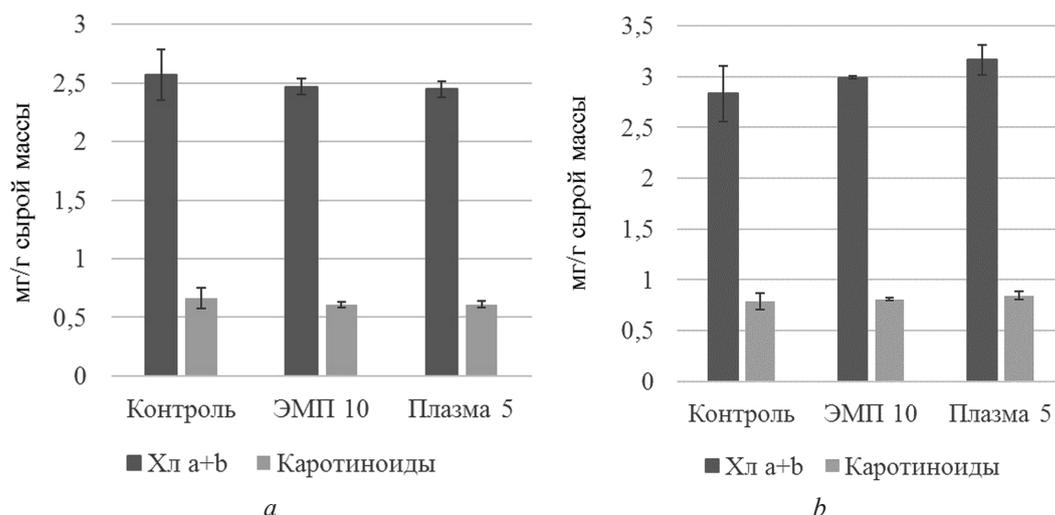


Рис. 5. Влияние плазменной и радиоволновой обработок семян на содержание фотосинтетических пигментов в листьях клевера, выращенного в лабораторных (а) и полевых (б) условиях

Fig. 5. Effect of plasma and radio wave seed treatments on the content of photosynthetic pigments in clover in laboratory (a) and field (b) conditions

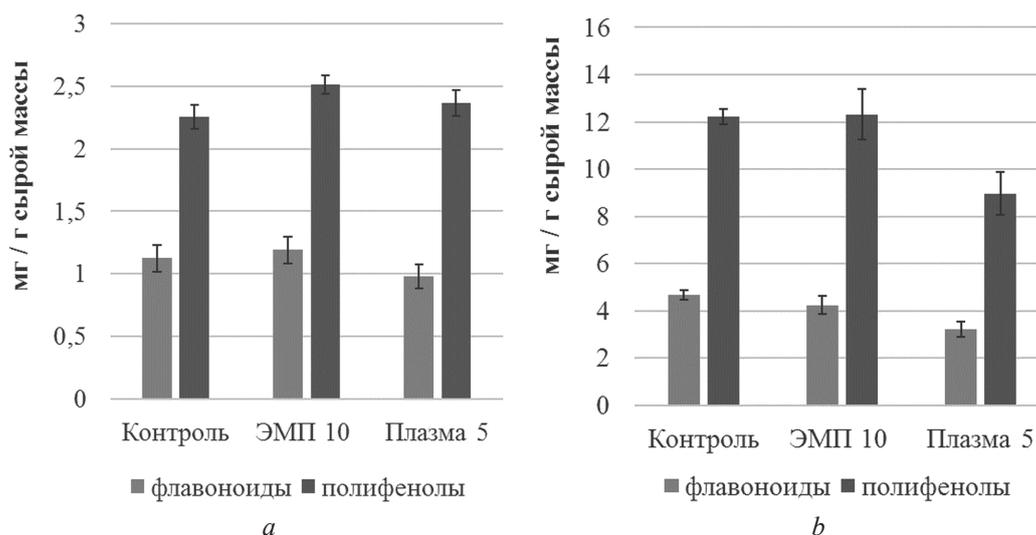


Рис. 6. Влияние плазменной и радиоволновой обработки семян на общее содержание флавоноидов и фенольных соединений в листьях клевера, выращенного в лабораторных (а) и полевых (б) условиях

Fig. 6. The effect of plasma and radio wave seed treatments on the total content of flavonoids and phenolics in clover leaves in laboratory (a) and field (b) conditions

1–2 тройчатых листьев как в лабораторных, так и в полевых условиях. В то же время уровень накопления общей суммы фенольных соединений и флавоноидов в листьях клевера значительно ниже в обработанных растениях, чем в контроле, особенно при обработке семян плазмой.

В основном биосинтез фенольных соединений (особенно флавоноидов) в растениях проходит по шикиматному пути, с образованием L-фенилаланина и L-тирозина. Данные аминокислоты участвуют не только в производстве вторичных метаболитов, но и в основном метаболизме для синтеза других аминокислот и белков. Таким образом, первичный и вторичный метаболизм могут конкурировать за доступные углеродсодержащие ассимиляты [18]. Вероятно, при отсутствии лимитирующих стрессовых факторов распределение ассимилятов идет на поддержку активного роста и развития растений. В работах [19–21] установлено, что на стадии активного роста и в условиях высокой доступности питательных веществ большое количество углеводов расходуется на первичный метаболизм (синтез белка), в то время как вторичный метаболизм ограничен.

Например, показано, что при высоком содержании азота накопление флавоноидов в растениях снижается.

В работе [22] проведен мультивариантный анализ 22 популяций клевера белого, позволяющий установить связь между накоплением флавоноидов и продуктивностью биомассы. Выявлено, что в популяциях клевера с высокой продуктивностью биомассы, крупными листьями и толстыми стержневыми корнями уровень накопления флавоноидов – гликозидов кверцетина и соотношение кверцетин:кемпферол низкие, в то время как в менее продуктивных популяциях наблюдается обратное явление.

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что плазменно-радиоволновая обработка семян клевера лугового оказывает стимулирующее действие на начальные этапы роста растений в лабораторных и полевых условиях, что выражается в увеличении длины и массы побега и корней. Наибольший эффект наблюдался у растений, семена которых подвергали обработке плазмой ВЧ разряда, в течение 5 мин. Снижение уровня флавоноидов в листьях на фоне активного роста растений клевера свидетельствует, вероятно, о доминирующем перераспределении углеводов на синтез веществ первичного метаболизма. Планируется проведение дальнейших исследований по изучению содержания вторичных метаболитов в корнях растений клевера лугового, а также на других стадиях развития в разные годы выращивания.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь, грант № Ф19ЛИТГ-008.

**Acknowledgements.** This work was supported by the State Committee on Science and Technology of the Republic of Belarus under grant no. Ф19ЛИТГ-008.

#### Список использованных источников

1. Pietruszewski, S. Magnetic field as a method of improving the quality of sowing material: a review / S. Pietruszewski, E. Martínez // *Int. Agrophys.* – 2015. – Vol. 29, N 3. – P. 377–389. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0044>
2. Plant responses to high frequency electromagnetic field / A. Vian [et al.] // *BioMed Res. Int.* – 2016. – Vol. 2016. – Art. ID 1830262. <https://doi.org/10.1155/2016/1830262>
3. Maffei, M. E. Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution / M. E. Maffei // *Front Plant Sci.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 445. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00445>
4. Response of perennial woody plants to seed treatment by electromagnetic field and low-temperature plasma / V. Mildaziene [et al.] // *Bioelectromagnetics.* – 2016. – Vol. 37, N 8. – P. 536–548. <https://doi.org/10.1002/bem.22003>
5. Влияние плазменно-радиоволновой обработки семян кукурузы и последующего их хранения в неблагоприятных условиях на физиолого-биохимические особенности проростков / Ж. Н. Калацкая [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бйял. навук.* – 2018. – Т. 63, № 1. – С. 7–19.
6. Pre-sowing treatment with cold plasma and electromagnetic field increases secondary metabolite content in purple coneflower (*Echinacea purpurea*) leaves / V. Mildaziene [et al.] // *Plasma Process. Polym.* – 2017. – Vol. 15, N 2. – P. 1700059. <https://doi.org/10.1002/ppap.201700059>
7. Effect of UV-C radiation, ultra-sonication electromagnetic field and microwaves on changes in polyphenolic compounds in chokeberry (*Aronia melanospora*) / T. Cebulak [et al.] // *Molecules.* – 2017. – Vol. 22, N 7. – P. 1161. <https://doi.org/10.3390/molecules22071161>
8. Влияние режимов воздействия плазмы высокочастотного емкостного разряда на стимуляцию всхожести и фитосанитарное состояние семян / И. И. Филатова [и др.] // *Журн. прикл. спектроскопии.* – 2014. – Т. 81, № 2. – С. 256–262.
9. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038-84, введ. 01.07.86 до 01.07.91. – М. : Изд-во стандартов, 1985. – 55 с.
10. Алексейчук, Г. Н. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки / Г. Н. Алексейчук, Н. А. Ламан. – Минск : Право и экономика, 2005. – 48 с.
11. Ladonne, F. Relationship between standard germination test, conductivity test and field emergence of pea seeds / F. Ladonne // *Acta Horticulturae.* – 1989. – Vol. 253. – P. 153–162. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1989.253.16>
12. Buckwheat – the source of antioxidant activity in functional foods / M. Holasova [et al.] // *Food Res. Int.* – 2002. – Vol. 35, N 2–3. – P. 207–211. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00185-5)
13. Мальцева, Е. М. Количественное определение суммарного содержания флавоноидов в траве кровохлебки лекарственной / Е. М. Мальцева, Н. О. Егорова, И. Н. Егорова // *Вестн. Урал. мед. акад. науки.* – 2011. – № 3–1. – С. 68–69.
14. Шлык, А. А. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев / А. А. Шлык // *Биохимические методы в физиологии растений / отв. ред. О. А. Павлинова.* – М., 1971. – С. 154–170.
15. Grantz, S. A. *Primer of Biostatistics* / S. A. Grantz. – 7th ed. – New York : McGraw-Hill, 2011. – 320 p.
16. Новоселова, А. С. Селекция и семеноводство клевера / А. С. Новоселова. – М. : Агропромиздат, 1986. – 200 с.

17. Treatment of common Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds with radio-frequency electromagnetic field and cold plasma induces changes in seed phytohormone balance, seedling development and leaf protein expression / V. Mildažienė [et al.] // *Sci. Reports.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 6437. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42893-5>
18. Stamp, N. Can the growth-differentiation balance hypothesis be tested rigorously? / N. Stamp // *Oikos.* – 2004. – Vol. 107, N 2. – P. 439–448. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.12039.x>
19. Nitrogen availability alters flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus* via the effects on the internal carbon/nitrogen balance / B. Deng [et al.]. // *Sci. Reports.* – 2019. – Vol. 9, N 1. – Art. 2370. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38837-8>
20. Nitrogen, phosphorus, and potassium effects on biomass yield and flavonoid content of American skullcap (*Scutellaria lateriflora*) / S. Shiwakoti [et al.] // *J. Plant Nutr.* – 2016. – Vol. 39, N 9. – P. 1240–1249. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1050509>
21. Genotype×environment analysis of flavonoid accumulation and morphology in white clover under contrasting field conditions / W. L. Ballizany [et al.] // *Field Crop Res.* – 2012. – Vol. 128. – P. 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.12.006>
22. Hofmann, R. W. Tradeoff between biomass and flavonoid accumulation in white clover reflects contrasting plant strategies / R. W. Hofmann, M. Z. Z. Jahufer // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6, N 4. – P. e18949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018949>

## References

1. Pietruszewski S., Martínez E. Magnetic field as a method of improving the quality of sowing material: a review. *International Agrophysics*, 2015, vol. 29, no. 3, pp. 377–389. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0044>
2. Vian A., Davies E., Gendraud M., Bonnet P. Plant responses to high frequency electromagnetic field. *BioMed Research International*, 2016, vol. 2016, art. ID 1830262. <https://doi.org/10.1155/2016/1830262>
3. Maffei M. E. Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. *Frontiers in Plant Science*, 2014, vol. 5, art. 445. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00445>
4. Mildaziene V., Pauzaite G., Malakauskiene A., Zukiene R., Nauciene Z., Filatova I., Azharonok V., Lyushkevich V. Response of perennial woody plants to seed treatment by electromagnetic field and low-temperature plasma. *Bioelectromagnetics*, 2016, vol. 37, no. 8, pp. 536–548. <https://doi.org/10.1002/bem.22003>
5. Kalatskaja J. N., Laman N. A., Filatova I. I., Frolova T. V., Lyushkevich V. A., Chubrik N. I., Goncharik S. V. Influence of plasma and radio-wave treatment of corn seeds and their storage in adverse conditions on physiological and biochemical characteristics of seedlings. *Vestsi Natsyional'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 1, pp. 7–19 (in Russian).
6. Mildaziene V., Pauzaite G., Nauciene Z., Malakauskiene A., Zukiene R., Januskaitiene I., Jakstas V., Ivanauskas L., Filatova I., Lyushkevich V. Pre-sowing treatment with cold plasma and electromagnetic field increases secondary metabolite content in purple coneflower (*Echinacea purpurea*) leaves. *Plasma Processes and Polymers*, 2017, vol. 15, no. 2, p. 1700059. <https://doi.org/10.1002/ppap.201700059>
7. Cebulak T., Oszmiański J., Kapusta I., Lachowicz S. Effect of UV-C radiation, ultra-sonication electromagnetic field and microwaves on changes in polyphenolic compounds in chokeberry (*Aronia melanospora*). *Molecules*, 2017, vol. 22, no. 7, p. 1161. <https://doi.org/10.3390/molecules22071161>
8. Filatova I. I., Azharonok V. V., Goncharik S. V., Lyushkevich V. A., Zhukovsky A. G., Gadzhieva G. I. Effect of RF plasma treatment on the germination and phytosanitary state of seeds. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2014, vol. 81, no. 2, pp. 250–256. <https://doi.org/10.1007/s10812-014-9918-5>
9. State Standard 12038-84. *Seeds of crops. Germination determination methods*. Moscow, Publishing house of standards, 1985. 55 p. (in Russian).
10. Alekseichuk G. N., Laman N. A. *Physiological quality of seeds of crops and methods for its assessment*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2005. 48 p. (in Russian).
11. Ladonne F. Relationship between standard germination test, conductivity test and field emergence of pea seeds. *Acta Horticulturae*, 1989, vol. 253, pp. 153–162. <https://doi.org/10.17660/actahortic.1989.253.16>
12. Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreanova S. Buckwheat – the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International*, 2002, vol. 35, no. 2–3, pp. 207–211. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00185-5)
13. Mal'tseva E. M., Egorova N. O., Egorova I. N. Quantitative determination of the total content of flavonoids in the herb of *Sanguisorba officinalis* L. *Vestnik Ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki* [Bulletin of the Ural medical academic science], 2011, no. 3–1, pp. 68–69 (in Russian).
14. Shlyk A. A. Determination of chlorophyll and carotenoids in green leaf extracts. *Biokhimičeskie metody v fiziologii rastenii* [Biochemical methods in plant physiology]. Moscow, 1971, pp. 154–170 (in Russian).
15. Grantz S. A. *Primer of biostatistics. 7th ed.* New York, McGraw-Hill, 2011. 320 p.
16. Novoselova A. S. Selection and seed production of clover. Moscow, Agropromizdat Publ., 1986. 200 p. (in Russian).
17. Mildažienė V., Aleknavičiūtė V., Žūkienė R., Paužaitė G., Naučienė Z., Filatova I., Lyushkevich V., Haimi P., Tamošiūnė I., Baniulis D. Treatment of common Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds with radio-frequency electromagnetic field and cold plasma induces changes in seed phytohormone balance, seedling development and leaf protein expression. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 6437. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42893-5>
18. Stamp N. Can the growth-differentiation balance hypothesis be tested rigorously? *Oikos*, vol. 107, no. 2, pp. 439–448. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.12039.x>

19. Deng B., Li Y., Xu D., Ye Q., Liu G. Nitrogen availability alters flavonoid accumulation in *Cyclocarya paliurus* via the effects on the internal carbon/nitrogen balance. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 2370. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38837-8>

20. Shiwakoti S., Shannon D. A., Wood C. W., Joshee N., Rimando A., Lawrence K. S., Kemppainen B. Nitrogen, phosphorus, and potassium effects on biomass yield and flavonoid content of American skullcap (*Scutellaria lateriflora*). *Journal of Plant Nutrition*, 2016, vol. 39, no. 9, pp. 1240–1249. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1050509>

21. Ballizany W. L., Hofmann R. W., Jahufer M. Z. Z., Barrett B. A. Genotype×environment analysis of flavonoid accumulation and morphology in white clover under contrasting field conditions. *Field Crops Research*, 2012, vol. 128, pp. 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.12.006>

22. Hofmann R. W., Jahufer M. Z. Z. Tradeoff between biomass and flavonoid accumulation in white clover reflects contrasting plant strategies. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 4, p. e18949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018949>

## Информация об авторах

*Недведь Елена Леонардовна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nedved\_e@tut.by

*Калацкая Жанна Николаевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalatskayaj@mail.ru

*Ламан Николай Афанасьевич* – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: laman.nikolai@gmail.com

*Минкова Виктория Викторовна* – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: minkovavi@gmail.com

*Герасимович Константин Михайлович* – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: herasimovichkm@gmail.com

*Овчинников Игорь Алексеевич* – ассистент. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: igor-1606@mail.ru

*Копылова Наталья Александровна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natal.kopylova.68@mail.ru

*Филатова Ирина Ивановна* – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: filatova@presidium.bas-net.by

*Люшкевич Вероника Александровна* – науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68-2, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: verolyu@tut.by

## Information about the authors

*Helen L. Nedved* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nedved\_e@tut.by

*Joanna N. Kalatskaja* – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalatskayaj@mail.ru

*Nikolai A. Laman* – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: laman.nikolai@gmail.com

*Victoria V. Minkova* – Junior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: minkovavi@gmail.com

*Kanstantsin M. Herasimovich* – Junior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: herasimovichkm@gmail.com

*Igor A. Ovchinnikov* – Assistant. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: igor-1606@mail.ru

*Natalia A. Kopylova* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natal.kopylova.68@mail.ru

*Irina I. Filatova* – Ph. D. (Phys. and Math.), Leading researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: filatova@presidium.bas-net.by

*Veronika A. Lyushkevich* – Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68-2, Nezavisimosti Ave., 2200072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: verolyu@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 577.164.1  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-199-211>

Поступила в редакцию 20.07.2019  
Received 20.07.2019

И. И. Степура<sup>1</sup>, С. А. Лабор<sup>1</sup>, В. И. Степура<sup>2</sup>, А. В. Янцевич<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

## ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЕ РИБОФЛАВИНОМ ОКИСЛЕНИЕ ТИАМИНА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТА И ВИДИМОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

**Аннотация.** При воздействии ультрафиолета UVA ( $\lambda = 315\text{--}400$  нм) и видимого света ( $\lambda > 400$  нм) на водные растворы тиамин в смеси с рибофлавином тиамин окисляется в тиохром и оксодигидротиохром. Окисление тиамин в тиохром в аэробных условиях происходит с участием синглетного кислорода. В анаэробных условиях при воздействии ультрафиолета и видимого излучения на водные растворы тиамин последний в присутствии рибофлавина не окисляется. Тиохром в аэробных условиях под действием как синглетного кислорода, так и фотосенсибилизатора (рибофлавина в триплетном состоянии) окисляется с образованием оксодигидротиохрома. В анаэробных условиях окисление тиохрома с образованием оксодигидротиохрома происходит с участием фотосенсибилизатора рибофлавина в триплетном состоянии.

В работе обсуждаются возможные механизмы повреждения клеточных структур глаза вследствие инактивации тиамин-зависимых ферментов под действием интенсивного видимого света в присутствии эндогенного фотосенсибилизатора – рибофлавина.

**Ключевые слова:** тиамин, рибофлавин, тиохром, оксодигидротиохром, ультрафиолет UVA, видимый свет

**Для цитирования:** Фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиамин в водных растворах при воздействии ультрафиолета и видимого излучения / И. И. Степура [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 199–211. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-199-211>

Ivan I. Stepuro<sup>1</sup>, Svetlana A. Labor<sup>1</sup>, Vitali I. Stsiapura<sup>2</sup>, Aleksey V. Yantsevich<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## RIBOFLAVIN-PHOTOSENSITIZED THIAMINE OXIDATION IN AQUEOUS SOLUTIONS ON EXPOSURE TO ULTRAVIOLET AND VISIBLE LIGHT

**Abstract.** It was shown the irradiation of aqueous solutions of thiamine and riboflavin with ultraviolet UVA (315–400 nm) and visible light ( $\lambda > 400$  nm) leads to oxidation of thiamine to thiochrome and oxodihydrothiochrome. In absence of riboflavin in aerobic conditions thiamine oxidation to thiochrome was mainly due to reaction with singlet oxygen. Under anaerobic conditions, thiamine in the presence of riboflavin was photostable and UV and visible light irradiation of their aqueous solutions did not result in thiamine oxidation. Under aerobic conditions, thiochrome was oxidized to form oxodihydrothiochrome in reactions with singlet oxygen and riboflavin in triplet states. Under anaerobic conditions, oxidation of thiochrome to oxodihydrothiochrome occurred due to reaction with riboflavin in triplet state. Possible mechanisms of the damage of cellular eye structures due to inactivation of thiamine-dependent enzymes on exposure to intensive UVA and visible light in the presence of endogenous photosensitizer riboflavin are discussed.

**Keywords:** thiamin, riboflavin, thiochrome, oxodihydrothiochrome, ultraviolet UVA, visible light

**For citation:** Stepuro I. I., Labor S. A., Stsiapura V. I., Yantsevich A. V. Riboflavin-photosensitized thiamine oxidation in aqueous solutions on exposure to ultraviolet and visible light. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 199–211 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-199-211>

**Введение.** Ионизирующее и ультрафиолетовое излучение вызывает повреждение и гибель клеток вследствие как прямого воздействия на структуру ДНК и белков, так и вследствие генерации активных форм кислорода и активных карбонильных соединений. Белки составляют до 70 % от сухого веса клеток и тканей, поэтому во многих случаях служат важной мишенью при воздействии ультрафиолета или ионизирующего излучения. Из всех хромофорных групп

(исключая простетические), входящих в состав белков, наиболее высоким поглощением в ближнем УФ-диапазоне обладают индольное кольцо триптофана, а также тирозильные остатки.

Прямое воздействие ультрафиолета осуществляется путем поглощения излучения белками или связанными с ними хромофорными группами, вызывая возбужденные состояния (синглетные или триплетные) либо образование свободных радикалов вследствие фотоионизации [1].

Другие важнейшие процессы, приводящие к окислению белков, связаны с генерацией синглетного кислорода благодаря переносу энергии с возбужденных ароматических аминокислотных остатков белка, в первую очередь остатков тирозина и триптофана, на молекулы кислорода в основном в триплетном состоянии [2, 3]. В результате этой реакции образуется синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ).

Тиамин (или витамин  $\text{B}_1$ ), являясь незаменимым элементом питания для организма, используется как структурный компонент молекулы тиаминдифосфата, который является кофактором таких важнейших ферментов энергетического метаболизма, как пируватдегидрогеназа и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа, а также кофактором транскетолазы – ключевого фермента пентозофосфатного цикла. Тиамин не является классическим витамином-антиоксидантом, однако его дефицит на фоне окислительного стресса вызывает нейродегенеративные заболевания [4], гибель нейронов [5], развитие дегенеративных процессов в фибриллах клеток хрусталика [6]. При воздействии ультрафиолета на водные растворы тирозина, триптофана или водные растворы белков генерируются синглетный кислород, феноксильные и триптофанильные свободные радикалы аминокислот или свободные радикалы соответствующих аминокислотных остатков белков, которые окисляют тиамин и фосфорные эфиры тиамина [7]. Тиамин не поглощает электромагнитное излучение с  $\lambda > 300$  нм и устойчив к действию ультрафиолета UVA ( $\lambda = 315\text{--}400$  нм) и видимого света. Однако в организме присутствует целый ряд хромофоров и простетических групп ферментов, способных генерировать синглетный кислород под действием видимого света. Это рибофлавин, витамин  $\text{B}_6$ , белки, содержащие ковалентно связанные фосфопиридоксильные остатки с первичными аминогруппами ( $\epsilon$ -аминогруппами остатков лизина,  $\alpha$ -аминогруппами N-конца полипептидной цепи белковой макромолекулы) [8].

Ранее показано, что тиамин эффективно окисляется синглетным кислородом, который генерируется рибофлавином под действием видимого света [9].

Цель данной работы – исследование фотосенсибилизированного рибофлавином окисления тиамина при воздействии ультрафиолета или видимого света на водные растворы тиамина, идентификация молекул – продуктов окисления витамина  $\text{B}_1$  и определение их строения.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали тиамин, тиохром и рибофлавин фирмы Sigma (США). Оксидигидротиохром получали по ранее описанному методу [10].

Растворенный в воде кислород удаляли с помощью сульфита натрия. Концентрацию растворенного кислорода определяли с помощью электрода Кларка (Hansatech Instruments Ltd).

Масс-спектрометрический анализ водных растворов производных тиамина проводили, используя хроматографическую систему Agilent Infinity 1290 с разделением на колонке C18 Hypersil gold 100 $\times$ 2,1 (ThermoSci). Масс-спектрометрическое детектирование осуществляли с помощью квадрупольно-времяпролетного tandemного масс-спектрометрического детектора Q-TOF 6550 (Agilent) в режиме ионизации электрораспылением (ESI). Для обработки хроматограмм и масс-спектров использовали программу Mass Hunter Qualitative Analysis (Agilent), для определения концентраций тиохрома и оксидигидротиохрома – спектрофлуориметр CM2203 («Солар», Беларусь) [10, 11]. Концентрацию тиохрома в смеси с другими соединениями оценивали в растворах с оптической плотностью при длине волны возбуждающего света, не превышающей 0,2. Определение концентраций тиохрома и оксидигидротиохрома флуоресцентным методом проводили в присутствии рибофлавина после предварительного разбавления его растворов до концентрации  $\leq 5$  мкМ. Эффект внутреннего фильтра на интенсивность флуоресценции вследствие присутствия рибофлавина не учитывали. Растворы тиамина, а также растворы тиамина в смеси с рибофлавином облучали ртутной лампой СВД-120А. Для выделения областей спектра излучения в ультрафиолетовом (UVA,  $\lambda = 315\text{--}400$  нм) и видимом ( $\lambda \geq 400$  нм) диапазонах использовали светофильтры.

Для выделения линий излучения ртути при 365 и 436 нм применяли светофильтры УФС-6 и СЗС-22 соответственно, а для выделения спектральной области 320–500 нм – светофильтр СС2. Облучение светом с  $\lambda > 300$  нм производили в стеклянной кювете, в остальных случаях – в кварцевой. Растворы тиамин в смеси с рибофлавином в процессе эксперимента хранили в светонепроницаемой коробке для исключения облучения образцов рассеянным солнечным светом. Спектры поглощения определяли на спектрофотометре Cary-100 (США).

**Результаты исследования. Фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиамин в водных растворах при воздействии ультрафиолета UVA и видимого излучения в аэробных условиях.** В тиамине пиримидиновый и тиазоловый компоненты соединены между собой метиленовым мостиком, но  $\pi$ -сопряженные системы компонентов фактически изолированы друг от друга. Кроме того, сами плоскости ароматических циклов, по данным рентгеноструктурного анализа, расположены в кристаллах под углом примерно  $90^\circ$  [12] и, вероятно, эффект сопряжения их электронных систем в растворе также незначителен. Поэтому можно предположить, что тиазоловый и пиримидиновый компоненты будут окисляться активными формами кислорода и свободными радикалами независимо.

При отсутствии в растворе фотосенсибилизатора тиамин и его фосфорные эфиры устойчивы к воздействию видимого света. Облучение видимым светом, а также ультрафиолетом UVA ( $\lambda = 315\text{--}400$  нм) в течение 0,5–1 ч водных растворов тиамин не приводило к изменению его содержания в растворе и образованию продуктов фотолиза. Это связано с тем, что тиамин не поглощает свет с длинами волн больше 300 нм и поэтому устойчив к действию видимого света.

Спектр поглощения тиамин содержит две полосы поглощения с максимумами 233 и 267 нм (рис. 1, кривая 1). Только в присутствии рибофлавин наблюдали окисление тиамин в водных растворах под действием видимого света. Форма спектра поглощения смеси тиамин с рибофлавином изменяется при 200–300 и 300–400 нм (рис. 2). Наблюдается возрастание поглощения при 340–350 нм, характерное для оксодигидротиохром (см. рис. 1, кривая 2).

Среди продуктов окисления тиамин обнаружены тиохром и оксидигидротиохром, флуоресценция которых достигает максимума при 450 и 440 нм соответственно [10]. На рис. 1 представ-

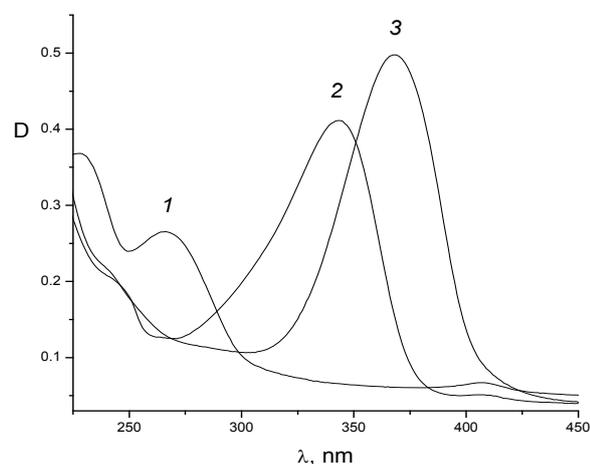


Рис. 1. Спектры поглощения тиамин (1), оксидигидротиохром (2), тиохром (3). Концентрация соединений – 0,25 мМ, 0,05 мМ фосфатный буфер, рН = 7,0. Спектры поглощения регистрировали в 10 мм кварцевой кювете

Fig. 1 Absorption spectra of thiamine (1), oxodihydrothiochrome (2) and thiochrome (3). The concentration of the compounds was 0.25 mM in 0.05 mM phosphate buffer, pH 7.0. Absorption spectra were measured in 10 mm quartz cell

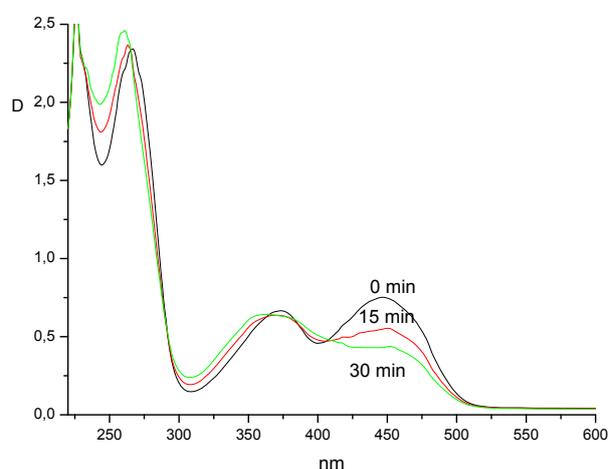


Рис. 2. Спектры поглощения водных растворов тиамин в смеси с рибофлавином в зависимости от времени облучения видимым светом. Растворы облучали в стеклянной кювете. Спектры поглощения после облучения регистрировали в 10 мм кварцевой кювете. Концентрация тиамин и рибофлавин – 0,1 мМ, 0,05 мМ фосфатный буфер, рН = 7,0

Fig. 2. Absorption spectra of aqueous solutions of thiamine in mixture with riboflavin at different times of the solutions irradiation by visible light. The solutions were irradiated in a glass cell. Absorption spectra were measured in 10 mm quartz cell. Thiamine and riboflavin concentrations were 0.1 mM and 0.05 mM, respectively, in phosphate buffer, pH 7.0

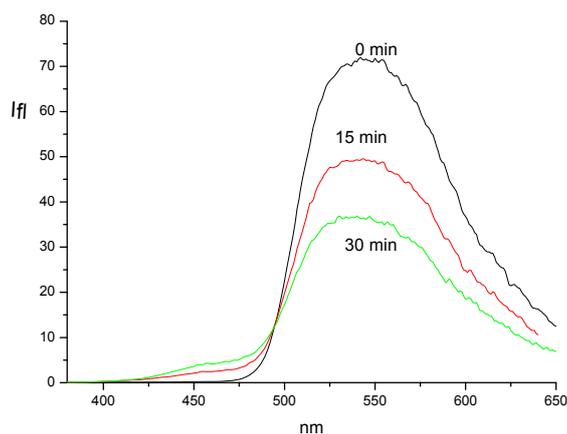


Рис. 3. Спектры флуоресценции водных растворов тиамин в смеси с рибофлавином в зависимости от времени облучения растворов видимым светом. Растворы облучали в стеклянной кювете. Концентрация тиамин и рибофлавин – 0,1 мМ, 0,05 мМ фосфатный буфер, pH = 7,0. Длина волны возбуждения флуоресценции 360 нм

Fig. 3. Fluorescence spectra of aqueous solutions of thiamine in mixture with riboflavin depending on the time of solution irradiation by visible light. The solutions were irradiated in a glass cell. The thiamine and riboflavin concentration was 0.1 mM, 0.05 mM phosphate buffer, pH 7.0. Excitation wavelength of the fluorescence – 360 nm

лены спектры поглощения тиамин, тioxрома и оксодигидротioxрома в изомолярных концентрациях. При возбуждении длиной волны 360 нм флуоресцирует главным образом тioxром, а при возбуждении длиной волны 340 нм – оксодигидротioxром. На рис. 3 представлены спектры флуоресценции водного раствора тиамин в смеси с рибофлавином в зависимости от времени облучения растворов видимым светом. Флуоресценцию облученных растворов возбуждали при длине волны 360 нм.

Кроме флуоресценции тioxрома и оксодигидротioxрома, максимумы которых перекрываются, наблюдается также сильная флуоресценция окисленной формы рибофлавин с максимумом 550 нм [12–15]. Спектры флуоресценции тioxрома и оксодигидротioxрома перекрываются с длинноволновым максимумом поглощения рибофлавин (445 нм), что может ослаблять их флуоресценцию. Однако ослабление флуоресценции вследствие эффекта внутреннего фильтра становилось существенным лишь для концентраций рибофлавин более 5 мкМ. Поэтому количественные измерения концентрации тioxрома в присутствии рибофлавин проводили в разбавленных растворах, а эффектом внутреннего фильтра пренебрегали.

Следует также отметить, что при облучении раствора, содержащего тиамин и рибофлавин, свет при  $\lambda = 436$  нм действовал значительно эффективнее, чем при  $\lambda = 365$  нм. Однако в обоих случаях продукты фотолиза тиамин были одинаковыми.

При отсутствии рибофлавин в растворе в масс-спектре водного раствора тиамин как исходного, так и после облучения в течение 30 мин регистрируются молекулярные ионы тиамин с  $m/z = 265,111$  и  $m/z = 266,114$  (табл. 1). Первый молекулярный ион соответствует наиболее распространенному (82 %) изотопологу тиамин с мономолекулярной массой  $M_0 = 265,1123$  а. е. м., тогда как второй – изотопологу с массой  $M_1 = 266,1149$  а. е. м. и частотой встречаемости 12,7 % (табл. 2). Относительная интенсивность пиков молекулярных ионов в масс-спектре тиамин хорошо коррелирует с частотой встречаемости изотопологов.

В присутствии рибофлавин в масс-спектре среди продуктов окисления тиамин под действием видимого света регистрируются пики продуктов с  $m/z = 263,096$  и  $m/z = 279,091$  соответственно (рис. 4), значения которых совпадают со значениями  $m/z$  пиков протонированных молекулярных ионов  $[M_0+H]^+$  тioxрома и оксодигидротioxрома соответственно (табл. 2). Кроме ионов  $[M_0+H]^+$  в масс-спектре также обнаруживаются молекулярные ионы протонированных изотопологов  $[M_1+H]^+$  тioxрома и оксодигидротioxрома, относительная интенсивность пиков которых составляет ~15 % от интенсивности пика ионов  $[M_0+H]^+$ . Следует подчеркнуть, что на рис. 4 приведены масс-спектры фракции с временем удерживания  $R_t = 2,5$ – $2,7$  мин, поэтому в указанном спектре не фигурирует молекулярный ион рибофлавин. Структурные формулы

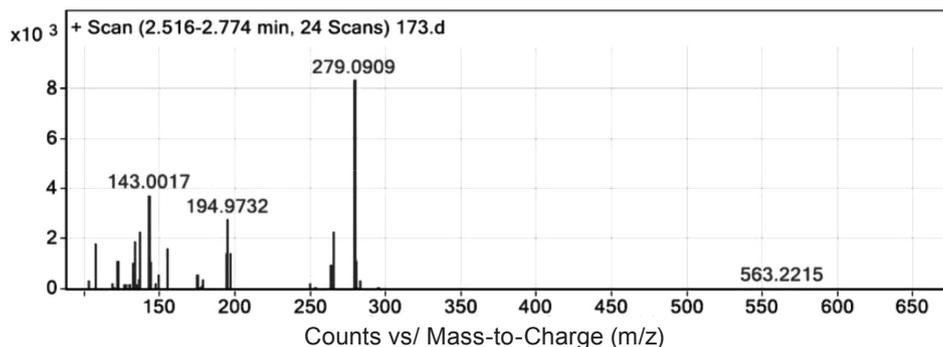


Рис. 4. Масс-спектр продуктов окисления тиамин, образовавшихся после облучения водных растворов тиамин в смеси с рибофлавином. Пик с  $m/z = 263,096$  принадлежит молекулярному иону тиохрома  $[M_0+H]^+$ , пик  $m/z = 279,091$  – молекулярному иону оксодигидротиохрома  $[M_0+H]^+$ , где  $M_0$  – моноизотопная масса молекулы. Начальные концентрации тиамин и рибофлавин в растворе – 0,02 мМ. Раствор облучали 15 мин лампой СВД-120А со светофильтром УФС-6

Fig. 4. Mass-spectra of thiamine oxidation products, formed after irradiation of thiamine and riboflavin in water. Peak at  $m/z = 263,096$  is assigned to molecular ion of thiochrome  $[M_0+H]^+$ , peak at  $m/z = 279,091$  – to molecular ion of oxodihydrothiochrome  $[M_0+H]^+$ , where  $M_0$  – monoisotopic mass. Initial concentrations of thiamine and riboflavin in the solution were 0.05 mM. The solution was exposed for 15 min to visible light of high-pressure mercury lamp SVD-120A using UFS-6 light filter

продуктов фотолиза тиамин и тиохрома, а также значения масс изотопологов и  $m/z$  молекулярных ионов приведены в табл. 2. Кроме молекулярных ионов тиамин, тиохрома и оксодигидротиохрома, тиаминдисульфида в масс-спектрах облученных растворов тиамин присутствуют фрагменты молекулы тиамин. Наиболее интенсивные пики имеют значения  $m/z$ , равные 122,0711 и 143,0017 соответственно.

Таблица 1. Значения  $m/z$  и интенсивности пиков продуктов фотосенсибилизированного рибофлавином окисления тиамин (Т) и тиохрома (ТChr) под действием ультрафиолета и видимого света ( $\lambda > 300$  нм, облучение в стеклянной кювете)

Table 1. Values of  $m/z$  and corresponding peak intensities of riboflavin-photosensitized thiamine and TChr oxidation products under exposure to ultraviolet and visible light (spectral range  $\lambda > 300$  nm, irradiation in a glass cell)

Состав раствора и время воздействия UVA	Т	ТChr	ODTChr	TSST
	$m/z = 265,111 [M_0]^+$ , $m/z = 266,114 [M_1]^+$	$m/z = 263,096 [M_0+H]^+$	$m/z = 279,091 [M_0+H]^+$	$m/z = 563,221 [M_0+H]^+$
Т (100 мкМ), 0 мин	71811			
Т (100 мкМ) + RF (100 мкМ), 30 мин	57855	988	9 550	6 899
ТChr (50 мкМ), 0 мин		186111	2901	
ТChr (50 мкМ), 30 мин		170493	20498	
ТChr (50 мкМ) + RF (50 мкМ), 0 мин		185211	3700	
ТChr (50 мкМ) + RF (50 мкМ), 5 мин		122557	70582	
ТChr (50 мкМ) + RF (50 мкМ), 30 мин		328	89 985	
ТChr (50 мкМ) + RF (50 мкМ) + $N_3^-$ (1 мМ), 30 мин			118 720	

Данные масс-спектрологии подтверждают результаты о сенсибилизированном рибофлавином окислении тиамин с образованием тиохрома и оксодигидротиохрома, а также тиохрома с образованием оксодигидротиохрома, полученные спектрально-флуоресцентными методами (табл. 1, 3).

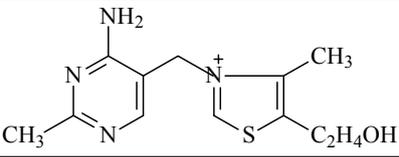
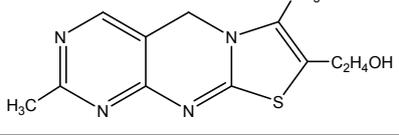
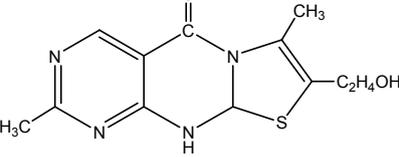
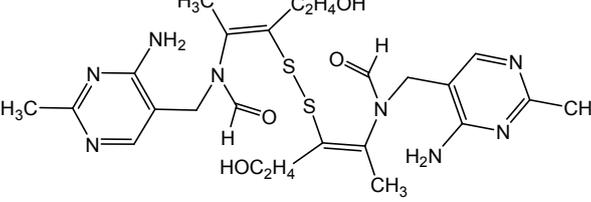
В аэробных условиях происходит эффективное тушение кислородом триплетных уровней рибофлавин с образованием синглетного кислорода:  ${}^3RF + O_2 \rightarrow RF + {}^1O_2$ .

Константа скорости тушения триплетных состояний флавиновых сенсибилизаторов кислородом равна  $(1-3) \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [2]. Поэтому можно предположить, что в окислении тиамин участие RF в триплетном состоянии крайне незначительно вследствие эффективного тушения триплетных состояний растворенным в воде кислородом. Мы предполагаем, что вслед-

ствии протекания фотосенсибилизированных рибофлавином реакций образование тиохрома в водных растворах тиамин происходит под действием синглетного кислорода. Молекулы тиамин с закрытым тиазоловым циклом находятся в равновесии с трициклической и тиольной формами тиамин [12]. Причем равновесная концентрация тиольной формы тиамин при pH = 7,0 не превышает 2,0 % от общей концентрации тиамин в водном растворе. Тиольная форма тиамин легко окисляется супероксид анионами и синглетным кислородом с образованием дисульфида тиамин [12]. В табл. 1 приведены интенсивности пиков тиаминдисульфида, образованного после воздействия видимого света на водные растворы тиамин в смеси с рибофлавином.

Т а б л и ц а 2. Структурные формулы тиамин, продуктов его окислительной трансформации и соответствующие величины масс изотопологов и m/z молекулярных ионов

Table 2. Structural formulas of thiamine, products of its oxidative transformation, corresponding masses of isotopologues and m/z values for their molecular ions

Соединение, масса изотопологов (частота встречаемости)	Структурная формула	m/z молекулярных ионов (относительная интенсивность)
<b>Тиамин</b> $M_0 = 265,1123$ (81,8 %) $M_1 = 266,1149$ (12,7 %) $M_2 = 267,1102$ (4,7 %)		$265,111 [M_0]^+$ (100 %) $266,114 [M_1]^+$ (13 %) $267,108 [M_2]^+$ (3 %)
<b>Тиохром</b> $M_0 = 262,0888$ (81,9 %) $M_1 = 263,0914$ (12,6 %) $M_2 = 264,0867$ (4,7 %)		$263,096 [M_0+H]^+$ (100 %) $264,097 [M_1+H]^+$ (15 %)
<b>Оксидигидротиохром</b> $M_0 = 278,0837$ (81,7 %) $M_1 = 279,0863$ (12,6 %) $M_2 = 280,0819$ (4,9 %)		$279,091 [M_0+H]^+$ (100 %) $280,094 [M_1+H]^+$ (14 %)
<b>Тиаминдисульфид</b> $M_0 = 562,2144$ (66,8 %) $M_1 = 563,2170$ (20,7 %) $M_2 = 564,2137$ (9,6 %)		$563,219 [M_0+H]^+$ (100 %) $564,226 [M_1+H]^+$ (23 %)

Предполагаемый механизм реакции окисления трициклической формы тиамин (ТФТ) в тиохром под действием синглетного кислорода ( $TFT + {}^1O_2 \rightarrow TChr + H_2O_2 + H_2O$ ) схематично представлен на рис. 5.

Как известно, синглетный кислород легко тушится азидом. Константа скорости тушения синглетного кислорода азидом натрия, по данным литературы, равна  $2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$  [2]. Азид натрия широко известен как эффективный тушитель синглетного кислорода, полученного как химическими, так и физическими методами. Поэтому можно предположить, что добавление азид натрия в раствор, содержащий RF и тиамин, облучаемый видимым светом, позволит выяснить, протекает ли образование тиохрома только лишь под действием синглетного кислорода. Действительно, после добавления азид резко снижается выход тиохрома после воздействия ультрафиолета на водные растворы, содержащие тиамин и рибофлавин. В то же время полного ингибирования образования тиохрома не происходит даже при концентрации азид 1 мМ (рис. 6).

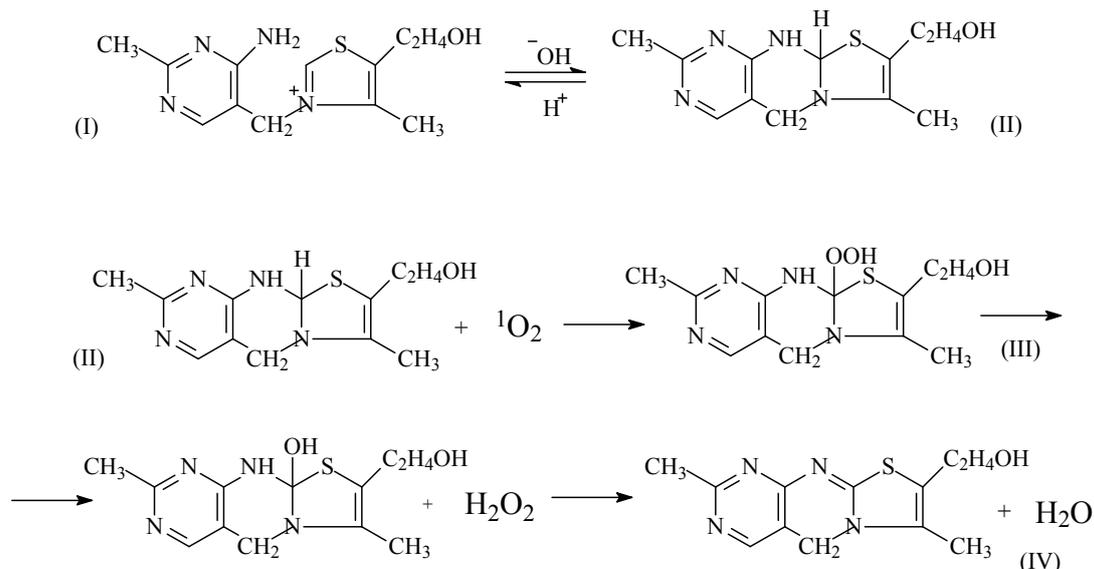


Рис. 5. Предполагаемая схема окисления тиаминa под действием синглетного кислорода.

(I) – катионная форма тиаминa с закрытым тиазоловым циклом; (II) – трициклическая форма тиаминa;  
(III) – пероксидная форма трициклической формы тиаминa; (IV) – тиохром

Fig. 5. Proposed scheme of thiamine oxidation by singlet oxygen. (I) – cationic form of thiamine with closed thiazole ring;  
(II) – tricyclic form of thiamine; (III) – peroxide form of the tricyclic form of thiamine; (IV) – thiochrome

Более высокие концентрации азидa еще больше снижают выход тиохрома. Поэтому можно предположить, что фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиаминa в тиохром происходит под действием синглетного кислорода. Вероятно, участие триплетных состояний рибофлавина в прямой реакции с тиамином, приводящей к окислению последнего в тиохром, весьма незначительно (рис. 6, кривая 2) вследствие эффективного тушения триплетных состояний растворенным в воде кислородом. Мы предполагаем, что образование небольших количеств тиохрома в растворах тиаминa в смеси с рибофлавином (рис. 6, кривая 1), а также в растворах тиаминa в смеси с рибофлавином и азидом (рис. 6, кривая 2) до начала облучения может быть вызвано воздействием рассеянного комнатного света в процессе их приготовления.

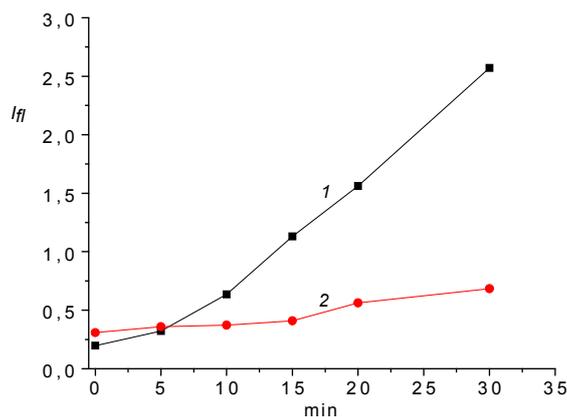


Рис. 6. Образование тиохрома, регистрируемого флуоресцентным методом, в зависимости от времени облучения водных растворов тиаминa в смеси с рибофлавином (1), тиаминa в смеси с рибофлавином и азидом (2) в атмосфере воздуха. Начальная концентрация тиаминa, рибофлавина – 0,1 мМ, азидa – 1,0 мМ. Облучение растворов лампой СВД-120А проводили в стеклянной кювете. Длина волны возбуждения – 360 нм, флуоресценции – 450 нм

Fig. 6. Dependence of thiochrome formation (measured by fluorescence) on irradiation time in aqueous solutions of thiamine with riboflavin (1) and of thiamine mixture with riboflavin and azide (2) in air atmosphere. Initial concentrations of thiamine and riboflavin were 0.1 mM, azide – 1.0 mM. The solutions were irradiated in a glass cell by SVD-120A lamp. Excitation wavelength – 360 nm, emission – 450 nm

После удаления кислорода сульфитом (5 мМ) наблюдали очень малый выход тиохрома при воздействии ультрафиолета и видимого излучения на водные растворы тиамин в присутствии рибофлавина. Это свидетельствует о том, что триплетные состояния рибофлавина вносят малый вклад или вообще не участвуют в процессе окисления тиамин и превращения его в тиохром.

Образовавшийся тиохром претерпевает дальнейшие превращения в присутствии рибофлавина при облучении светом и окисляется до оксодигидротиохрома (см. табл. 1, 3).

***Фотосенсибилизированное рибофлавином окисление тиохрома в водных растворах при воздействии ультрафиолета UVA и видимого излучения в аэробных и анаэробных условиях.***

Водные растворы тиохрома в атмосфере воздуха стабильны к действию ультрафиолета UVA и видимого излучения. Облучение водных растворов тиохрома в присутствии рибофлавина вызывает окисление тиохрома в оксодигидротиохром, что сопровождается снижением интенсивности флуоресценции тиохрома. В табл. 3 приведены данные об изменении содержания тиохрома и оксодигидротиохрома в растворе в зависимости от времени воздействия электромагнитного излучения. Данные масс-спектрологии (см. табл. 1) также свидетельствуют об образовании оксодигидротиохрома после облучения водных растворов тиохрома в смеси с рибофлавином UVA и видимым светом. В присутствии рибофлавина наблюдали быстрое окисление тиохрома в оксодигидротиохром. В начальные же промежутки времени воздействия ультрафиолета UVA наблюдали приблизительно одинаковое снижение концентрации тиохрома и, соответственно, такое же возрастание концентрации образовавшегося оксодигидротиохрома (табл. 3). Последующее облучение растворов сопровождалось снижением выхода оксодигидротиохрома. Это свидетельствует о том, что оксодигидротиохром – не конечный продукт фотолиза тиохрома, а идет дальнейший процесс его превращения (см. табл. 1).

Т а б л и ц а 3. Ингибирование азидом окисления тиохрома в оксодигидротиохром, фотосенсибилизированного рибофлавином, в аэробных условиях

Table 3. Azide inhibition of riboflavin-photosensitized oxidation of thiochrome (TChr) to oxodihydrothiochrome (ODTChr) under aerobic conditions

Состав раствора	Время воздействия, мин	Концентрация TChr, мкМ	Концентрация ODTChr, мкМ
TChr + RF	0	50,0	0
TChr + RF	5	25,5	24,5
TChr + RF	10	14,1	35,9
TChr + RF + N <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5	36,5	13,5
TChr + RF + N <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	24,6	25,4

П р и м е ч а н и е. Начальная концентрация рибофлавина и тиохрома в растворе – 50 мкМ, азид натрия – 1,0 мМ. Водные растворы в атмосфере воздуха облучали светом лампы СВД-120А ( $\lambda > 300$  нм, светофильтр СЗС22). Облученные растворы перед измерением концентрации тиохрома и оксодигидротиохрома разбавляли в 10 раз.

Азид ингибирует окисление тиохрома в оксодигидротиохром в фотореакциях, сенсибилизированных рибофлавином (табл. 3). Однако вклад синглетного кислорода в окисление тиохрома в процентном соотношении значительно меньше, нежели вклад синглетного кислорода в окисление тиамин. В присутствии азид (1,0 мМ) выход тиохрома при фотосенсибилизированном рибофлавином окислении тиамин снижается в 4–5 раз (рис. 6). При фотосенсибилизированном рибофлавином окислении тиохрома выход оксодигидротиохрома в присутствии азид той же концентрации снижается только на 50 % (табл. 3). Метод масс-спектрологии также показывает, что окисление тиохрома с образованием оксодигидротиохрома происходит при облучении тиохрома в присутствии азид (см. табл. 1). Таким образом, в случае сенсибилизированного рибофлавином окисления тиохрома наблюдается совсем другая ситуация, чем при окислении тиамин.

Полученные результаты позволяют предположить, что в окислении тиохрома в оксодигидротиохром наряду с синглетным кислородом участвуют и молекулы рибофлавина в триплетном

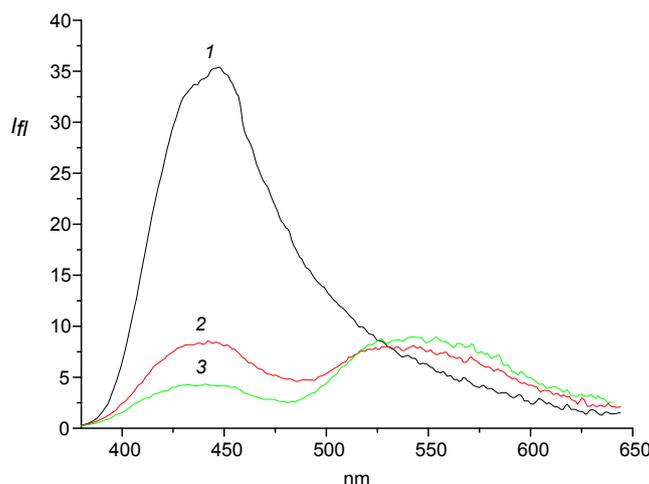


Рис. 7. Спектры флуоресценции водных растворов тиохрома в смеси с рибофлавином и сульфитом натрия в зависимости от времени облучения растворов светом лампы СВД-120А. Время облучения – 5 мин (1), 15 мин (2), 30 мин (3). Растворы облучали в стеклянной кювете. Концентрация тиохрома и рибофлавина – 20 мкМ, концентрация сульфита натрия – 5 мМ, 0,05 мМ фосфатный буфер, pH = 7,0. Возбуждение флуоресценции тиохрома проводили при 360 нм

Fig. 7. Fluorescence spectra of thiochrome aqueous solutions in mixture with riboflavin and sodium sulfite depending on time of irradiation by SVD-120A lamp. The irradiation times were 5 min (1), 15 min (2), 30 min (3). The solutions were irradiated in a glass cell. The concentrations of thiochrome and riboflavin were 20  $\mu$ M, sodium sulfite – 5 mM, 0.05 mM phosphate buffer, pH 7.0. Thiochrome fluorescence was excited at 360 nm

состоянии. Действительно, фотосенсибилизированное окисление тиохрома в оксидигидро-тиохром происходит и после удаления растворенного кислорода сульфитом.

При воздействии ультрафиолета и видимого излучения на водные растворы тиохрома и рибофлавина в присутствии 5 мМ сульфита наблюдали быстрое обесцвечивание рибофлавина и полное превращение тиохрома в оксидигидротиохром (рис. 7). Лейко-форма рибофлавина не флуоресцирует. Интенсивность флуоресценции тиохрома при облучении снижается примерно на порядок (рис. 7) и наблюдается сдвиг максимума флуоресценции с 450 до 440 нм, что свидетельствует об образовании оксидигидротиохрома. Как известно, квантовые выходы флуоресценции тиохрома и оксидигидротиохрома в водных растворах равны соответственно 0,28 и 0,03 [10]. Спектр поглощения рибофлавина в окисленной форме имеет максимумы при 266, 373 и 445 нм (см. рис. 2).

Двуэлектронное восстановление рибофлавина приводит к почти полному исчезновению полосы при 450 нм (рис. 7) и частичному уменьшению поглощения при 266 и 373 нм [12, 15]. Следует отметить, что частичное восстановление рибофлавина сульфитом наблюдается в анаэробных условиях уже до начала облучения. Если удалять растворенный кислород путем барботирования струей азота, то удастся избежать частичного восстановления рибофлавина до начала облучения растворов. После барботирования облученных растворов струей воздуха лейко-форма рибофлавина переходит в окисленную форму, спектр поглощения рибофлавина приобретает первоначальную форму и цвет раствора восстанавливается. После насыщения растворов воздухом интенсивность флуоресценции рибофлавина также возвращается к первоначальному уровню (рис. 8).

Суммируя полученные результаты, можно предположить, что в анаэробных условиях молекула рибофлавина в триплетном состоянии захватывает электроны от донора – молекулы тиохрома. В результате образуются семихинонная свободнорадикальная форма рибофлавина  $\cdot$ RFH и свободнорадикальная форма тиохрома:  $RF + h\nu \rightarrow {}^3RF + TChr \rightarrow \cdot TChr + \cdot RFH$ . Далее семихинонная форма рибофлавина или молекула рибофлавина в триплетном состоянии отрывает еще один водород от донора с образованием оксидигидротиохрома и бесцветной лейко-формы рибофлавина. В результате данных реакций молекула тиохрома окисляется в оксидигидротиохром:  $\cdot TChr + {}^3RF + H_2O \rightarrow \cdot RFH + ODTChr$ ,  $\cdot TChr + \cdot RFH + H_2O \rightarrow RFH_2 + ODTChr$ .

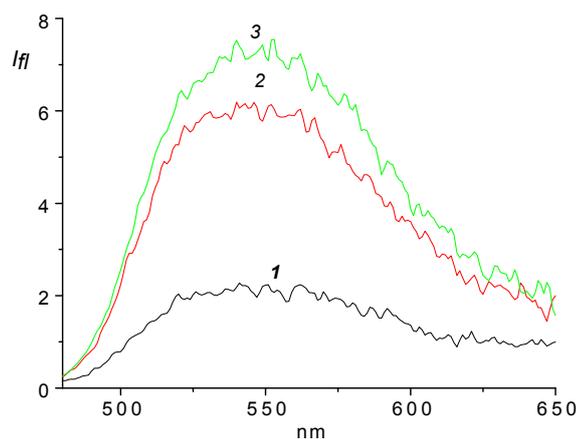


Рис. 8. Спектры флуоресценции рибофлавина для различных времен после облучения видимым светом водных растворов тиохрома в смеси с рибофлавином и сульфитом. Растворы облучали в стеклянной кювете. Концентрация тиохрома и рибофлавина – 0,1 мМ, сульфита – 5 мМ, 0,05 мМ фосфатный буфер, pH = 7,0. Возбуждение флуоресценции рибофлавина при 460 нм. Время облучения – 0 мин (1), 15 мин (2), 30 мин (3)

Fig. 8. Fluorescence spectra of riboflavin at different times after visible light irradiation of thiochrome aqueous solutions in mixture with riboflavin and sulfite. The solutions were irradiated in a glass cell. Concentrations of thiochrome and riboflavin were 0.1 mM, sulfite – 5 mM, 0.05 mM phosphate buffer, pH 7.0. Excitation of riboflavin fluorescence was at 460 nm. Exposition times were 0 min (1), 15 min (2); 30 min (3)

Лейко-форма рибофлавина образуется вследствие протекания реакции диспропорционирования семихинонных форм рибофлавина:  $2 \cdot \text{RFH} \rightarrow \text{RFH}_2 + \text{RF}$ .

Семихинонная и лейко-формы рибофлавина взаимодействуют с кислородом с образованием супероксиданионов, пероксида водорода и окисленной формы рибофлавина [12]:  $\cdot \text{RFH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{RF} + \text{HO}_2$ . Образовавшийся вследствие этой реакции пероксидный радикал кислорода  $\text{HO}_2$  неустойчив и легко диссоциирует на супероксид анион и протон (pH = 4,7). Поэтому в нейтральной среде при pH = 7,0 их равновесные концентрации составляют 99,5 % ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) и 0,5 % ( $\text{HO}_2$ ) соответственно. Следовательно, в нейтральной среде будет присутствовать преимущественно диссоциированная форма – супероксид анион-радикалы ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ).

Лейко-форма рибофлавина под действием кислорода также переходит в окисленную форму рибофлавина:  $\text{RFH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{RF} + \text{H}_2\text{O}_2$ . Поэтому после насыщения воздухом облученных растворов рибофлавина в смеси с тиохромом форма спектра поглощения смеси восстанавливается до первоначального вида.

**Обсуждение.** Рибофлавин, один из компонентов  $\text{B}_2$ -витаминного комплекса, присутствует в живых организмах в свободной форме, а также в виде флавин мононуклеотида (FMN) и флавин аденинмононуклеотида (FAD) во всех аэробных клетках. Эти нуклеотидные формы рибофлавина являются простетическими группами целого класса окислительно-восстановительных ферментов. Флавопротеиды распространены повсеместно.

Как известно, рибофлавин, витамин  $\text{B}_2$ , при облучении видимым светом образует активные формы кислорода [13–15]. Он выступает в роли фотосенсибилизатора, взаимодействует с кислородом и переводит молекулу кислорода в электронно-возбужденное синглетное состояние. Синглетный кислород генерируется благодаря переносу энергии с возбужденного триплетного состояния молекулы рибофлавина на молекулу кислорода в триплетном (основном) состоянии. Синглетный кислород окисляет многие субстраты, в том числе фенолы, ароматические аминокислоты, пептиды, инактивирует многие ферменты [2, 13, 14]. Под действием синглетного кислорода поражаются такие организмы, как вирусы, бактерии, грибы, многоклеточные растения и животные [2, 13, 15].

Сенсибилизированные рибофлавином фотохимические реакции, вероятно, протекают также *in vivo*. Рибофлавин поглощает видимый свет, проходящий сквозь кожу, воздействует на структурные компоненты глаза и образует фотовозбужденные состояния, которые генерируют активные формы кислорода, свободные радикалы рибофлавина.

Вероятно, рибофлавин может играть роль эндогенного инактиватора различных патогенов, в том числе вирусов и бактерий, например, в крови [16]. Несмотря на то что физиологическая концентрация рибофлавина в тканях весьма невелика для значительной фотосенсибилизирующей активности в клеточных структурах, это соединение может быть эндогенным клеточным фотосенсибилизатором как *in vivo*, так и *in vitro* [17, 18].

Высокий уровень интенсивности ультрафиолета или видимого излучения в присутствии фотосенсибилизаторов способен генерировать избыточные количества свободных радикалов и активных форм кислорода и вызывать повреждение белковых макромолекул и клеточных структур [13–18]. В организме человека некоторые нарушения могут быть связаны с одновременным применением фоточувствительных лекарств и фотосенсибилизаторов. Например, интенсивный видимый свет в присутствии фотосенсибилизаторов (витамина В<sub>2</sub>) способен уменьшить содержание в крови некоторых биологически активных соединений [2, 15]. Как видно из представленных данных, наблюдается окисление тиамин с образованием тиохрома под действием видимого света в присутствии рибофлавина. Окисление тиамин в тиохром происходит в основном в аэробных условиях под действием синглетного кислорода. В анаэробных условиях тиамин в присутствии рибофлавина не окисляется при воздействии ультрафиолета и видимого излучения.

Совсем другая ситуация в случае тиохрома. При воздействии ультрафиолета и видимого излучения на водные растворы тиохрома и рибофлавина в присутствии 5 мМ сульфита наблюдали быстрое обесцвечивание рибофлавина и полное превращение тиохрома в оксодигидро тиохром. Это свидетельствует об участии молекул рибофлавина в триплетном состоянии в окислении тиохрома.

Как известно, продолжительное воздействие ультрафиолетового излучения на глаз вызывает образование активных форм кислорода, которые, скорее всего, и ответственны за развитие различных дегенеративных процессов, в том числе катаракты. Защитные механизмы против повреждающего действия окислительного стресса, вызванного излучением, включают прямой перехват свободных радикалов, возрастание продукции НАД(Р)Н, поглощение ультрафиолета [19]. Внешняя поверхность роговицы покрыта многослойным эпителием, который играет роль барьера, отделяющего внутренние структуры глаза от внешней среды, препятствует всасыванию слезной жидкости, является фильтром, ослабляющим повреждающее действие ультрафиолетового излучения [1, 19, 20]. Тиамин и тиамин-зависимые ферменты, вероятно, играют важную роль в защите роговицы и хрусталика глаза от повреждения активными формами кислорода и азота. В метаболизме роговицы преобладает фосфоглюконатный окислительный путь, который использует более 50 % потребляемой глюкозы. Транскетолаза, тиамин-зависимый ключевой фермент фосфоглюконатного окислительного пути, составляет 10–15 % от общего количества водорастворимых ферментов роговицы мышей. Фосфоглюконатный путь, наряду с гликолизом, также играет важную роль в обмене углеводов в хрусталике [19, 21].

**Заключение.** Нами установлено, что не только UVA ультрафиолет, но и интенсивный видимый свет в присутствии фотосенсибилизатора рибофлавина (витамина В<sub>2</sub>) способен снизить содержание тиамин в крови, а также в клеточных структурах глаза.

Снижение концентрации тиаминдифосфата может происходить не только вследствие прямого действия ультрафиолета на молекулу кофермента, но и вследствие его окисления в дифосфаты тиохрома и оксодигидро тиохрома синглетным кислородом.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № M18-157) и Государственной программы научных исследований «Химические технологии и материалы» (задание 5.28).

**Acknowledgements.** This work was supported by Belarusian Foundation for Basic Research (grant M18-157) and State program of scientific research «Chemical Technologies and Materials» (project 5.28).

#### Список использованных источников

1. Davies, M. J. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis / M. J. Davies, J. W. Truscott // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. – 2001. – Vol. 63, N 1–3. – P. 114–125. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00208-1](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00208-1)
2. Фут, Х. Фотосенсибилизированное окисление и синглетный кислород. Биологические следствия / Х. Фут // Свободные радикалы в биологии / ред. У. Прайор. – М., 1979. – С. 96–143.

3. Красновский, А. А. Фотодинамическая регуляция биологических процессов: первичные механизмы / А. А. Красновский // Проблемы регуляции в биологических системах / под общ. ред. А. Б. Рубина. – М. ; Ижевск, 2006. – С. 223–254.
4. Calingasan, N. Y. Vascular endothelium is a site of free radical production and inflammation in areas of neuronal loss in thiamine-deficient brain / N. Y. Calingasan, G. E. Gibson // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 903, N 1. – P. 353–356. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06386.x>
5. Changes in nitric oxide synthase-containing neurons in the brain of thiamine-deficient mice / H. Matsushita [et al.] // *Acta Histochemica et Cytochemica.* – 2000. – Vol. 33, N 2. – P. 67–72. <https://doi.org/10.1267/ahc.33.67>
6. Frederikse, P. H. Thiamine deficiency *in vivo* produces fiber cell degeneration in mouse lenses / P. H. Frederikse, P. Farnsworth, J. S. Zigler // *J. Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 258, N 3. – P. 703–707. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0560>
7. Ингибирование тиамином фотолиза тирозина, триптофана, тирозинильных и триптофанильных остатков белков под действием ультрафиолета / И. И. Степуро [и др.] // Посттрансляционная модификация белков : ст. участников Белорус.-пол.-лит. семинара «Биохимия и молекулярная биология», 11–12 мая 2017 г. / редкол. : Л. И. Надольник (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2017. – С. 68–86.
8. Photosensitized formation of singlet oxygen by vitamins of the B group / B. M. Dzhagarov [et al.] // *J. Appl. Spectroscopy.* – 1995. – Vol. 62, N 2. – P. 285–289. <https://doi.org/10.1007/bf02606482>
9. Natera, J. Vitamin B<sub>1</sub> as a scavenger of reactive oxygen species photogenerated by vitamin B<sub>2</sub> / J. Natera, W. A. Massad, N. A. García // *Photochem. Photobiol.* – 2011. – Vol. 87, N 2. – P. 317–323. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2010.00867.x>
10. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide / I. I. Stepuro [et al.] // *Biochemistry (Moscow).* – 2012. – Vol. 77, N 1. – P. 41–55. <https://doi.org/10.1134/s0006297912010051>
11. Stepuro, I. I. Oxidized thiamine derivatives. Mechanisms of formation under exposure to reactive nitrogen and oxygen species and in hemoprotein – catalyzed reactions / I. I. Stepuro, V. I. Stepuro. – [s. l.] : LAP LAMBERT Acad. Publ., 2014. – 280 p.
12. Мецлер, Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке : в 3 т. / Д. Мецлер. – М. : Мир, 1980. – Т. 2. – 606 с.
13. Edvards, A. Effect of visible light on selected enzymes, vitamins and amino acids / A. Edvards, E. Silva // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* – 2001. – Vol. 63, N 1–3. – P. 126–131. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00209-3](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00209-3)
14. Generation and photosensitization properties of oxidized radicals of riboflavin: a laser flash photolysis study / C.-Y. Lu [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* – 1999. – Vol. 52, N 1–3. – P. 111–116. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(99\)00111-6](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(99)00111-6)
15. Insińska-Rak, M. Riboflavin interactions with oxygen – a survey from the photochemical perspective / M. Insińska-Rak, M. Sikorski // *Chem. Eur. J.* – 2014. – Vol. 20, N 47. – P. 15280–15291. <https://doi.org/10.1002/chem.201403895>
16. Corbin, F. Pathogen inactivation of blood components: current status and introduction of an approach using riboflavin as a photosensitizer / F. Corbin // *Int. J. Hematol.* – 2002. – Vol. 76, N S2. – P. 253–257. <https://doi.org/10.1007/bf03165125>
17. Iqbal, J. Photooxidation of acyclovir with thermally generated triplet excited ketones. A comparison with type I and II photosensitizers / J. Iqbal, A. Husain, A. Gupta // *Chem. Pharm. Bull.* – 2006. – Vol. 54, N 4. – P. 519–521. <https://doi.org/10.1248/cpb.54.519>
18. Supramolecular photonic therapeutic agents / S. O. McDonnell [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2005. – Vol. 127, N 47. – P. 16360–16361. <https://doi.org/10.1021/ja0553497>
19. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress / N. Lassen [et al.] // *Seminars Cell Develop. Biol.* – 2008. – Vol. 19, N 2. – P. 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.semedb.2007.10.004>
20. Островский, М. А. Молекулярные механизмы повреждающего действия света на структуры глаза и системы защиты от такого повреждения / М. А. Островский // *Успехи биол. химии.* – 2005. – Т. 45. – С. 173–204.
21. Основы биохимии : в 3 т. / А. Уайт [и др.]. – М. : Мир, 1981. – Т. 3. – 726 с.

## References

1. Davies M. J., Davies J. M., Truscott J. W. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*, 2001, vol. 63, no. 1–3, pp. 114–125. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00208-1](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00208-1)
2. Fut kh. Photosensitized oxidation and singlet oxygen. Biological consequences. *Svobodnye radikaly v biologii* [Free radicals in biology]. Moscow, 1979, pp. 96–143 (in Russian).
3. Krasnovskii A. A. Photochemical regulation of biological processes: primary mechanisms. *Problemy regulyatsii v biologicheskikh sistemakh* [Problems of regulation in biological systems]. Moscow, Izhevsk, 2006, pp. 223–254 (in Russian).
4. Calingasan N. Y., Gibson G. E. Vascular endothelium is a site of free radical production and inflammation in areas of neuronal loss in thiamine-deficient brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, vol. 903, no. 1, pp. 353–356. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06386.x>
5. Matsushita H., Takeuchi Y., Kosaka K., Fushiki S., Kawata M., Sawada T. Changes in nitric oxide synthase-containing neurons in the brain of thiamine-deficient mice. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 2000, vol. 33, no. 2, pp. 67–72. <https://doi.org/10.1267/ahc.33.67>
6. Frederikse P. H., Farnsworth P., Zigler J. S. Thiamine deficiency *in vivo* produces fiber cell degeneration in mouse lenses. *Journal of Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, vol. 258, no. 3, pp. 703–707. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0560>

7. Stepuro I. I., Labor S. A., Stepuro V. I., Smirnov V. Yu. Thiamine inhibition of photolysis of tyrosine, tryptophane, tyrosinyl and tryptophanyl protein residues on exposure to ultraviolet. *Posttranslyatsionnaya modifikatsiya belkov: stat'i uchastnikov Belorussko-pol'sko-litovskogo seminara «Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya» (Grodno, 11–12 maya 2017 goda)* [Post-translational modification of proteins: articles of participants in the Belarusian-Polish-Lithuanian seminar "Biochemistry and Molecular Biology" (Grodno, May 11–12, 2017)]. Grodno, 2017, pp. 68–86 (in Russian).
8. Dzhagarov B. M., Kruk N. N., Konovalova N. V., Solodunov A. A., Stepuro I. I. Photosensitized formation of singlet oxygen by vitamins of the B group. *Journal of Applied Spectroscopy*, 1995, vol. 62, no. 2, pp. 285–289. <https://doi.org/10.1007/bf02606482>
9. Natera J., Massad W. A., García N. A. Vitamin B<sub>1</sub> as a scavenger of reactive oxygen species photogenerated by vitamin B<sub>2</sub>. *Photochemistry and Photobiology*, 2011, vol. 87, no. 2, pp. 317–323. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2010.00867.x>
10. Stepuro I. I., Oparin A. Yu., Stsiapura V. I., Maskevich S. A., Titov V. Yu. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide. *Biochemistry (Moscow)*, 2012, vol. 77, no. 1, pp. 41–55. <https://doi.org/10.1134/s0006297912010051>
11. Stepuro I. I., Stepuro V. I. *Oxidized thiamine derivatives. Mechanisms of formation under exposure to reactive nitrogen and oxygen species and in hemoprotein – catalyzed reactions*. S.l., LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. 280 p.
12. Metzler D. E. *Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells*. New York, Academic Press, 1977. 1164 p.
13. Edwards A., Silva E. Effect of visible light on selected enzymes, vitamins and amino acids. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*, 2001, vol. 63, no. 1–3, pp. 126–131. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(01\)00209-3](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(01)00209-3)
14. Lu C.-Y., Wang W.-F., Lin W.-Z., Han Z.-H., Yao S.-D., Lin N.-Y. Generation and photosensitization properties of oxidized radicals of riboflavin: a laser flash photolysis study. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*, 1999, vol. 52, no. 1–3, pp. 111–116. [https://doi.org/10.1016/s1011-1344\(99\)00111-6](https://doi.org/10.1016/s1011-1344(99)00111-6)
15. Insińska-Rak M., Sikorski M. Riboflavin Interactions with oxygen – a survey from the photochemical perspective. *Chemistry – A European Journal*, 2014, vol. 20, no. 47, pp. 15280–15291. <https://doi.org/10.1002/chem.201403895>
16. Corbin F. Pathogen inactivation of blood components: current status and introduction of an approach using riboflavin as a photosensitizer. *International Journal of Hematology*, 2002, vol. 76, no. S2, pp. 253–257. <https://doi.org/10.1007/bf03165125>
17. Iqbal J., Husain A., Gupta A. Photooxidation of acyclovir with thermally generated triplet excited ketones. A comparison with type I and II photosensitizers. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2006, vol. 54, no. 4, pp. 519–521. <https://doi.org/10.1248/cpb.54.519>
18. McDonnell S. O., Hall M. J., Allen L. T., Byrne A., Gallagher W. M., O'Shea D. F. Supramolecular photonic therapeutic agents. *Journal of the American Chemical Society*, 2005, vol. 127, no. 47, pp. 16360–16361. <https://doi.org/10.1021/ja0553497>
19. Lassen N., Black W. J., Estey T., Vasiliou V. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress. Seminars in cell and developmental biology. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 2008, vol. 19, no. 2, pp. 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2007.10.004>
20. Ostrovskii M. A. Molecular mechanisms of damaging effect of light on eye structures and systems of protection against this damage. *Uspekhi biologicheskoi khimii* [Advances in biological chemistry], 2005, vol. 45, pp. 173–204 (in Russian).
21. White A., Handler P., Smith E. L., Hill R. L., Lehman I. R. *Principles of biochemistry. 4th ed.* New York, McGraw-Hill, 1968. 1187 p.

### Информация об авторах

*Степура Иван Иванович* – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [scepura@gmail.com](mailto:scepura@gmail.com)

*Лабор Светлана Алексеевна* – аспирант, мл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [swet.labor2010@yandex.by](mailto:swet.labor2010@yandex.by)

*Степура Виталий Иванович* – канд. физ.-мат. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [stsiapura@gmail.com](mailto:stsiapura@gmail.com)

*Янцевич Алексей Викторович* – канд. хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь).

### Information about the authors

*Ivan I. Stepuro* – Ph. D. (Biol.), Associated Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (BLK, 50, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [scepura@gmail.com](mailto:scepura@gmail.com)

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

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

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 631.529(470.62):635.92:582.47

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-212-219>

Поступила в редакцию 08.01.2020

Received 08.01.2020

**В. И. Торчик**

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИНТРОДУКЦИИ ДЕКОРАТИВНЫХ ФОРМ ХВОЙНЫХ ВИДОВ В БЕЛАРУСИ**

**Аннотация.** В статье обобщен многолетний опыт интродукции на территорию Беларуси более 200 декоративных форм 62 видов хвойных. Приводятся сведения о биологических особенностях их роста и развития, устойчивости к болезням и вредителям в сравнении с основными видами.

Предлагаемый в соответствии с полученными результатами новый методический подход позволяет выявить перспективные садовые формы на основе учета генотипических особенностей роста и развития наиболее устойчивых в условиях Беларуси видов, что позволит сократить сроки их первичной оценки до 5–6 лет. Дана оценка регенерационной способности стеблевых черенков и разработаны технологические регламенты по организации выращивания посадочного материала растений.

**Ключевые слова:** хвойные, интродукция, декоративные формы, рост и развитие, устойчивость, укореняемость, стеблевые черенки, технологический регламент

**Для цитирования:** Торчик, В. И. Теоретические и практические аспекты интродукции декоративных форм хвойных видов в Беларуси / В. И. Торчик // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. наук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 212–219. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-212-219>

**Uladzimir I. Torchyk**

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

## **THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS OF THE INTRODUCTION OF CONIFEROUS DECORATIVE FORMS IN BELARUS**

**Abstract.** The article summarizes the many years of experience in introducing into Belarus over 200 decorative forms of 60 species of conifers. Provides information on the biological characteristics of growth and development, resistance to diseases and pests in comparison with the main species.

It is substantiated a new methodological approach to identifying perspective plants, based on taking into account the genotypic characteristics of the growth and development of most stable in Belarus cultivars. This approach reduces the time for their initial assessment to 5–6 years. An assessment is made of the regenerative ability of stem cuttings and technological procedures have been developed that made it possible to organize the cultivation of planting material of perspective plants in Belarus.

**Keywords:** conifers, introduction, decorative forms, growth and development, stability, rooting, stem cuttings, technological regulations

**For citation:** Torchyk U. I. Theoretical and practical aspects of the introduction of coniferous decorative forms in Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 212–219 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-212-219>

**Введение.** Декоративные садовые формы или культивары хвойных видов получили в последнее время широкое распространение в декоративном садоводстве многих стран мира, включая и Республику Беларусь. Их популярность обусловлена разнообразием форм кроны, формой, размерами и окраской хвои, системой ветвления, что делает их универсальными при создании объектов ландшафтной архитектуры, озеленении городов и создании частных садов. Они пригодны для регулярных и ландшафтных композиций, оформления парадных мест и партеров, приусадебных участков, создания рокариев и каменистых горок, а также для нетрадиционных форм озеленения, таких как сады на крышах и контейнерное озеленение. Их можно высаживать группами и одиночно, использовать для оформления террас, склонов и водоемов [1].

Следует отметить, что в зеленом строительстве Беларуси на протяжении всего периода его становления использовались декоративные растения инородной флоры. Об этом свидетельствуют результаты регулярных инвентаризаций культурной дендрофлоры республики [2–4]. Отмечалось произрастание в озеленительных посадках, садах и парках декоративных форм наиболее распространенных в озеленении хвойных видов: пихты одноцветной '*Violacea*', ели колючей '*Argentea*', '*Glauca*', '*Kosteriana*', тсуги канадской '*Fastigiata*' и '*Pendula*', туи западной '*Lutescens*', '*Aureospicata*', '*Globosa*' и др. Эти высокорослые растения по своему габитусу почти не отличались от основного вида.

Проведение активной работы по отбору низкорослых и миниатюрных сортов, востребованных в современном декоративном садоводстве, привело к появлению значительного формового разнообразия растений. К настоящему времени в ботанических садах, садах и парках, питомниках и частных коллекциях накоплен богатейший ассортимент садовых форм хвойных видов. По данным [5–8] и др., насчитывается более 2000 хвойных культиваров. В то же время активный приток на территорию республики многочисленных садовых форм, которые не всегда достаточно устойчивы в условиях Беларуси, вызвал ряд негативных последствий при создании садово-парковых композиций.

Цель настоящей работы – обобщение экспериментальных данных по росту, развитию и устойчивости более 200 декоративных форм и обоснование нового методического подхода, повышающего результативность поиска перспективных декоративных форм хвойных видов для их интродукции на территорию Беларуси.

**Объекты и методы исследования.** При выявлении перспективных для зеленого строительства растений первоочередное внимание было уделено интродукции и изучению устойчивых в условиях Беларуси садовых форм хвойных видов как группе растений, которые отличаются значительным разнообразием форм и сохраняют высокие декоративные качества на протяжении всего года. Контролем при изучении сезонной ритмики садовых форм служили растения основных видов, произрастающие в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (ЦБС НАН Беларуси). Объектами исследования являлись более 200 декоративных форм 62 видов хвойных растений. Фенологические наблюдения проводили по методике Совета ботанических садов СССР [9]. Зимостойкость надземной части растений оценивали в баллах по шкале, предложенной П. И. Лапиным и С. В. Сидневой [10]. Регенерационную способность стеблевых черенков изучали по общепринятым методикам [11]. Укоренение проводили в условиях искусственного тумана в субстрате из крупнозернистого песка и верхового торфа в соотношении 1:1 (v/v). Видовой состав болезней и вредителей определяли по Л. Ю. Трейвас [12].

**Результаты и их обсуждение.** Сравнительный анализ данных показал, что для преобладающего большинства садовых форм характерен индивидуальный ритм сезонного развития (см. таблицу). Как правило, вегетация садовых форм может начинаться как раньше, так и позже, чем у растений исходного вида. Садовые формы одного вида, но разного географического происхождения отличаются между собой и по срокам прохождения отдельных фенологических фаз. При этом интервал между началом и окончанием одноименных фенофаз может достигать 5–20 дней и более.

У некоторых садовых форм ели, сосны, лиственницы и тсуги сезонное развитие соответствует сезонному развитию исходных видов или несколько опережает его. У садовых форм тисов вегетация начинается с цветения, набухания почек и распускания листьев и наступает раньше, чем у растений исходного вида, или одновременно с ней. В прохождении остальных фенологических фаз определенная закономерность не выявлена. Начало вегетации садовых форм семейства кипарисовых совпадает с началом роста побегов у видов.

Продолжительность роста побегов садовых форм определяется происхождением исходного вида и особенностями гидротермического режима вегетационного периода. Садовые формы родов ель и сосна отличаются коротким периодом роста побегов с его кульминацией в июне–июле. У представителей семейства кипарисовых, как правило, рост побегов заканчивается в конце августа – начале сентября, но при теплой и затяжной осени он может продолжаться до конца сентября и даже в октябре. Некоторым садовым формам присущ вторичный рост побегов. Это в первую

очередь относится к садовым формам ели канадской группы ‘*Conica*’. У большинства из них он протекает в среднем 2 мес. и по времени значительно превышает продолжительность первичного роста побегов.

В целом сезонная ритмика изученных интродуцентов соответствует годовому ритму погодно-климатических условий в Беларуси, чем в значительной степени обеспечивается успешность их культуры в регионе.

**Прохождение основных фенологических фаз развития у садовых форм некоторых хвойных видов  
в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси**

**The passage of the main phenological phases of development in garden forms of some conifers  
in the Central Botanical Garden of the NAS of Belarus**

Название растения	Начало набухания почек	Распускание почек	Обособление хвои	Окончание роста хвои	Заложение почек	Окончание роста побегов	Одревеснение побегов
Лиственница европейская ‘ <i>Kornik</i> ’	<u>5.04</u> 12.04*	<u>9.04</u> 17.04*	<u>21.04</u> 23.04*	<u>25.07</u> 22.06*	<u>13.08</u> 23.07*	<u>13.08</u> 8.08*	<u>6.09</u> 10.09*
Лиственница японская ‘ <i>Blue Dwarf</i> ’	<u>14.04</u> 15.04*	<u>21.04</u> 23.04*	<u>28.04</u> 29.04*	<u>5.09</u> 21.06*	<u>23.08</u> 22.08*	<u>23.08</u> 4.09*	<u>14.09</u> 26.09*
Ель обыкновенная ‘ <i>Barryi</i> ’	<u>12.04</u> 28.04*	<u>10.05</u> 10.05*	<u>18.05</u> 14.05*	<u>16.06</u> 15.06*	<u>02.06</u> 03.06*	<u>10.06</u> 08.06*	<u>24.06</u> 29.07*
Ель канадская ‘ <i>Alberta Blue</i> ’	<u>14.04</u> 26.04*	<u>26.04</u> 15.05*	<u>11.05</u> 21.05*	<u>10.06</u> 13.06*	<u>02.06</u> 09.06*	<u>10.06</u> 13.06*	<u>10.07</u> 18.07*
Ель черная ‘ <i>Beissneri</i> ’	<u>30.04</u> 30.04*	<u>24.05</u> 13.05*	<u>14.06</u> 18.05*	<u>15.07</u> 19.06*	<u>07.07</u> 19.06*	<u>22.07</u> 29.06*	<u>22.07</u> 05.08*
Ель колочая ‘ <i>Glauca Globosa</i> ’	<u>14.04</u> 28.04*	<u>24.05</u> 15.05*	<u>31.05</u> 21.05*	<u>10.06</u> 13.06*	<u>03.06</u> 09.06*	<u>13.07</u> 13.06*	<u>15.07</u> 18.07*
Сосна горная ‘ <i>Gnom</i> ’	<u>07.04</u> 28.04*	<u>26.05</u> 4.06*	<u>09.06</u> 19.06*	<u>05.07</u> 10.07*	–	<u>03.06</u> 19.06*	–
Сосна черная ‘ <i>Piramidalis</i> ’	<u>14.04</u> 03.05*	<u>02.06</u> 8.06*	<u>23.06</u> 26.06*	<u>12.07</u> 10.07*	–	<u>08.07</u> 30.06*	–
Сосна обыкновенная ‘ <i>Aurea</i> ’	<u>14.04</u> 03.05*	<u>02.06</u> 27.05*	<u>19.06</u> 13.06*	<u>26.07</u> 30.07*	–	<u>10.06</u> 21.06*	–
Тсуга канадская ‘ <i>Cole’s Prostrate</i> ’	<u>23.04</u> 28.04*	<u>12.05</u> 19.05*	<u>17.05</u> 23.05*	<u>10.06</u> 24.06*	–	<u>25.08</u> 20.08*	<u>09.09</u> 20.09*
Тис ягодный ‘ <i>Aurea Decora</i> ’	<u>14.04</u> 23.04*	<u>28.05</u> 09.05*	<u>03.06</u> 16.05*	<u>05.07</u> 14.06*	–	<u>15.07</u> 10.08*	<u>24.08</u> 10.09*

Примечание. \* – средние многолетние данные для вида по Шкутко (1970).

Зимостойкость является основным фактором успешности произрастания новых растений в условиях Беларуси. По степени зимостойкости садовые формы в незначительной мере отличаются от растений основного вида. Наиболее частыми типами зимних повреждений (5–10 %) являются обмерзание годичного прироста побегов и частичное отмирание хвои. Эти повреждения отмечались почти ежегодно у садовых форм можжевельника китайского и тиса ягодного. В неблагоприятные зимы у садовых форм тиса ягодного при выращивании в контейнерах может повреждаться корневая система, что связано с длительным периодом роста корней и недостаточным их одревеснением.

Введение в культуру новых растений влечет за собой изменения и в составе патогенных организмов, что нередко влияет на успешность интродукции. Еще в конце 1990-х годов практически все интродуцированные садовые формы хвойных растений считались устойчивыми к болезням и вредителям. При этом отмечалось, что некоторые из них более устойчивы к вредителям, чем близкородственные местные. В то же время известно, что видовой состав возбудителей болезней и вредителей не постоянен и претерпевает значительные изменения (иногда в очень короткие сроки). Решающее значение на распространение возбудителей болезней оказывают экологические факторы и условия культивирования растений [13, 14].

Проведенные нами на протяжении длительного времени регулярные фитопатологические и энтомологические обследования коллекции декоративных форм ЦБС НАН Беларуси показали,

что садовые формы хвойных растений достаточно устойчивы к болезням и вредителям. На распространение болезней и степень повреждения ими растений существенное влияние оказывает характер погоды в зимне-весенний период. Наибольшее повреждение хвои и ветвей отмечалось нами при затяжной, холодной, с обильными осадками весне и предшествующей снежной, с оттепелями, зиме. Установлено, что основным возбудителем болезней на садовых формах *Thuja occidentalis* L., *Chamaecyparis pisifera* Sieb et Zucc. и других хвойных растениях является *Botrytis cinerea* Pers. Заболевание характеризуется образованием густой грибницы, окутывающей хвою и ветви, особенно внутри куста. При высокой степени развития болезни отмечалось отмирание нижних ветвей, на которых во влажную погоду образуются склероции гриба. Заболевание часто носит очаговый характер. В большей степени подвержены этой болезни формы с плотной кроной (шаровидные или компактные). В некоторых случаях, в загущенных посадках, причиной повреждения хвои садовых форм *Thuja occidentalis* L. являлся гриб *Alternaria* spp.

Следует отметить, что на садовых формах *Pinus mugo*, *Pinus nigra*, *Picea pungens* было зафиксировано поражение хвои снежным шютте (*Phacidium infestans* Karst.). Больше всего поражались грибом растения, которые долго находились под снегом или росли в условиях повышенной влажности.

Кора садовых форм *Taxus baccata* поражалась грибом *Phytophthora cactorum* Schroet. (фитотороз). На нижней части стебля, у корневой шейки образовывались вдавленные пятна, которые при высокой степени развития вызывали постепенное увядание и гибель всего растения. Повышенная влажность воздуха, почвы и загущенность посадок также способствовали развитию болезни.

Относительно устойчивыми в условиях Беларуси следует считать пестролистные формы. В первую очередь это садовые формы *Juniperus* × *media* ‘*Blue and Gold*’, ‘*Plumosa Albovariegata*’ и ‘*Plumosa Aureovariegata*’, а также *Juniperus chinensis* ‘*Variiegated Kaizuka*’, *Juniperus squamata* ‘*Golden Flame*’, *Chamaecyparis pisifera* ‘*Snow*’, у которых наблюдается повреждение цветных побегов в зимний и весенний периоды, что связано, по-видимому, с низкой устойчивостью этих побегов к возрастающей солнечной нагрузке с середины февраля до момента таяния снега и повышенной восприимчивостью к грибным болезням. Однако, несмотря на временное снижение декоративности, большинство изученных пестролистных форм с успехом могут использоваться в различных приемах зеленого строительства.

Снижать декоративность садовых форм хвойных растений могут также сосущие вредители: паутиные клещи, тли, щитовки и ложнощитовки. В течение всего периода наблюдений ежегодно отмечалась высокая степень развития елового паутинового клеща (*Oligonychus ununguis* Jacobi) на всех садовых формах *Picea glauca* ‘*Conica*’ и на отдельных представителях из родов *Juniperus* и *Chamaecyparis*. Заселенные вредителем растения покрываются тончайшей паутиной, слабеют, отстают в росте. Хвоя буреет, декоративность резко снижается.

Обследование посадок и идентификация вредителей показала также, что садовые формы некоторых можжевельников могут повреждаться тлей (*Cinara juniperi* De Geer.), или канадской ‘*Conica*’ – *Cinaria pilicornis* Htg. и *Mindarus obliquus* Chol., *Adelges laricis* Vall., *A. tardus* Dreyf., а формы *Thuja occidentalis* – *Cinaria juniperina* Mordv. Некоторые формы *Thuja occidentalis*, *Juniperus* и *Chamaecyparis* заселяются туевой ложнощитовкой (*Parthenolecanium fletcheri* Skll.) и можжевельниковой щитовкой (*Insulapsis juniperi* Lndgr.). Эти вредители, поселяясь на хвое и побегах, вызывают образование пятен, а при массовом размножении сильно ослабляют растения.

По результатам исследований сформирована коллекция декоративных форм древесных растений, которая насчитывает более 210 таксонов (рис. 1).

Введение в широкую культуру новых растений в значительной степени зависит от наличия эффективных технологий выращивания посадочного материала с учетом местных условий. При этом следует отметить, что садовые формы передают свои декоративные признаки только при вегетативном размножении. Для культиваров с высокой регенерационной способностью предпочтение отдается черенкованию, а с низкой – прививке. Наши исследования показали, что культу-

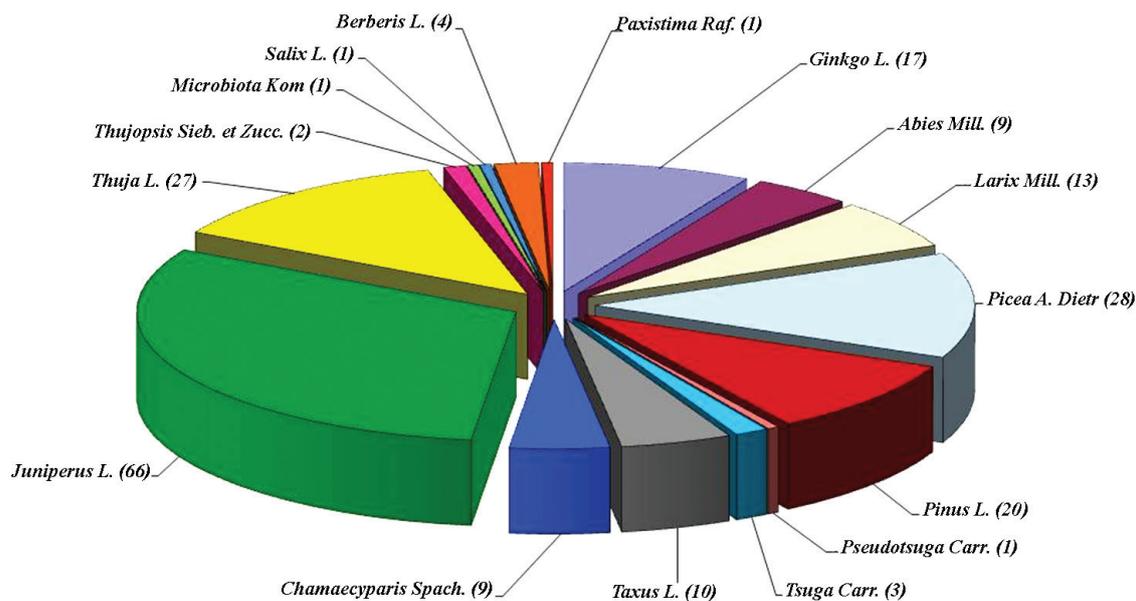


Рис. 1. Таксономический состав садовых форм древесных видов в коллекции ЦБС НАН Беларуси

Fig. 1. The taxonomic composition of garden forms of tree species in the collection of the Central Botanical Garden of NAS of Belarus

вары по степени ризогенеза существенно различаются. Легкоукореняемыми (80–100 %) оказались почти все формы туи западной, можжевельника казацкого, среднего, чешуйчатого, горизонтального и скального, кипарисовика горохоплодного, среднеукореняемыми (50–80 %) – некоторые культивары ели обыкновенной, тсуги канадской, тиса ягодного, кипарисовика нутканского и можжевельника виргинского. Ряд культиваров в пределах указанных родов и видов обладает низкой регенерационной способностью (менее 30 %). Способность черенков к образованию корней у культиваров проявляется неодинаково как у разных видов, так и в пределах одного вида [15]. При этом у одних видов все культивары отличаются сравнительно высокой способностью к придаточному корнеобразованию (туя западная, можжевельник горизонтальный и др.), у других видов среди культиваров наблюдается дифференциация по уровню ризогенеза (кипарисовик горохоплодный, можжевельник китайский, можжевельник казацкий, можжевельник обыкновенный и др.), что можно проследить на примере декоративных форм различных видов можжевельников (рис. 2).

Для определения стимулирования ризогенеза у культиваров с низкой регенерационной способностью изучено влияние традиционных (нафтилуксусная кислота, индолилмасляная кислота (ИМК), индолилуксусная кислота) и нетрадиционных (парааминобензойная кислота, эпин, янтарная кислота (ЯК), гидрогумат натрия, оксигумат натрия) регуляторов роста. Так, нами установлено, что у садовых форм рода *Juniperus L.* с низкой регенерационной способностью водные растворы регуляторов роста повышают укореняемость черенков на 8–55 %. Эффективность влияния регуляторов роста на укореняемость черенков индивидуальна и зависит от концентрации раствора и культивара. Например, для можжевельника китайского ‘*Blue Point*’ оптимальной оказалась концентрация 0,0025 % ИМК и 0,02 % ЯК, для можжевельника скального ‘*Blue Arrow*’ – 0,05 и 0,01 % ИМК, для можжевельника виргинского ‘*Burkii*’ – 0,02 % ЯК.

Результаты проведенных исследований положены в основу разработанных технологических регламентов по выращиванию посадочного материала декоративных садовых форм хвойных видов [16–20]. В этих регламентах внимание акцентируется также на создании оптимальных условий (подготовка культивационных сооружений, подбор субстрата, регулирование микроклимата и др.) во время укоренения черенков. Рекомендации внедрены в питомниках Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь, где организовано промышленное размножение ценных растений.

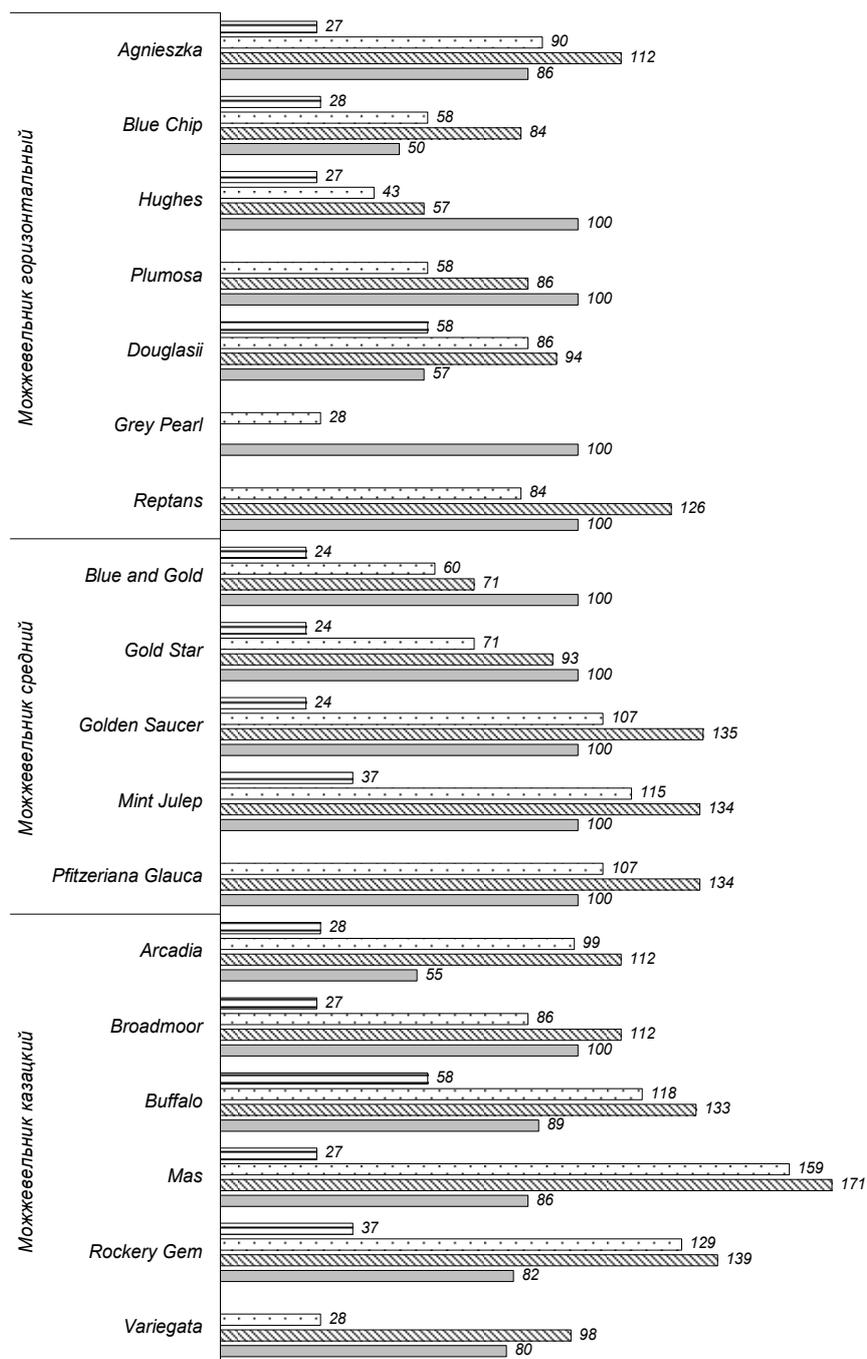


Рис. 2. Регенерационный потенциал культиваров можжевельника горизонтального (*Juniperus horizontalis* Moench), среднего (*Juniperus × media* van Melle) и казацкого (*Juniperus sabina* L.). ▨ – число дней до начала каллусообразования; ▩ – число дней до массового корнеобразования; ▤ – число дней до начала корнеобразования; ▣ – укореняемость, %

Fig. 2. The regenerative potential of cultivars of juniper horizontal (*Juniperus horizontalis* Moench), medium (*Juniperus × media* van Melle) and cossack (*Juniperus sabina* L.). ▨ – number of days before callus formation; ▩ – number of days before mass root formation; ▤ – number of days before root formation; ▣ – rooting, %

**Заклучение.** В результате комплексной оценки более 200 таксонов (сезонное развитие, рост побегов, отношение к факторам среды, болезням и вредителям) установлено, что устойчивость растений садовых форм в значительной степени коррелирует со степенью адаптированности к местным условиям исходных видов. В связи с этим выявлены перспективные для интродукции на территорию республики декоративные садовые формы видов, наиболее устойчивых в условиях Беларуси, что обеспечит сокращение сроков их первичной оценки до 5–6 лет.

### Список использованных источников

1. Торчик, В. И. Декоративные садовые формы хвойных растений / В. И. Торчик, Е. Д. Антонюк. – Минск : Эдит ВВ, 2007. – 152 с.
2. Интродуцированные деревья и кустарники в Белорусской ССР / под ред. Н. Д. Нестеровича. – Минск : Изд-во Акад. наук БССР, 1959–1961. – Вып. 3 : Интродуцированные древесные растения флоры Сибири, Европы, Средиземноморья, Крыма, Кавказа и Средней Азии. – 1961. – 335 с.
3. Федорук, А. Т. Интродуцированные деревья и кустарники западной части Белоруссии / А. Т. Федорук. – Минск : Изд-во БГУ, 1972. – 192 с.
4. Федорук, А. Т. Древесные растения садов и парков Белоруссии / А. Т. Федорук. – Минск : Наука и техника, 1980. – 205 с.
5. Федорук, А. Т. Садово-парковое искусство Белоруссии / А. Т. Федорук. – Минск : Ураджай, 1989. – 247 с.
6. Bärtels, A. Gehölzvermehrung / A. Bärtels. – Stuttgart : Ulmer, 1978. – 328 S.
7. List of Names of Woody Plants – International Standard ENA 2005–2010 / ed. M. H. A. Hoffman. – Wageningen : Applied Plant Research, 2005. – 871 p.
8. Auders, A. G. Encyclopedia of Conifers / A. G. Auders, D. P. Spicer. – Woking, United Kingdom : Royal Horticultural Society, 2012. – 1500 p.
9. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР : сб. ст. / отв. ред. П. И. Лапин. – М. : Изд-во Гл. ботан. сада АН СССР, 1975. – 135 с.
10. Лапин, П. И. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений / П. И. Лапин, С. В. Сиднева // Опыт интродукции древесных растений : сб. науч. работ / ГБС АН СССР ; отв. ред. П. И. Лапин. – М., 1973. – С. 7–67.
11. Иванова, З. Я. Биологические основы и приемы вегетативного размножения древесных растений стеблевыми черенками / З. Я. Иванова. – Киев : Наук. думка, 1982. – 288 с.
12. Трейвас, Л. Ю. Болезни и вредители роз, хвойных и других декоративных растений: атлас-определитель / Л. Ю. Трейвас. – М. : Фитон XXI, 2017. – 360 с.
13. Болезни и вредители декоративных растений в насаждениях Беларуси / В. А. Тимофеева [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 185 с.
14. Горленко, С. В. Вредители и болезни интродуцированных растений / С. В. Горленко, Н. А. Панько. – Минск : Наука и техника, 1967. – 136 с.
15. Торчик, В. И. Ризогенез у декоративных садовых форм хвойных растений и способы его интенсификации / В. И. Торчик, А. Ф. Келько, Г. А. Холопук. – Минск : Беларус. навука, 2017. – 218 с.
16. Торчик, В. И. Технологический регламент выращивания посадочного материала можжевельников / В. И. Торчик, А. Ф. Келько, Г. А. Холопук. – Минск : Право и экономика, 2014. – 24 с.
17. Торчик, В. И. Технологический регламент выращивания посадочного материала садовых форм тисов / В. И. Торчик, А. Ф. Келько, Г. А. Холопук. – Минск : Право и экономика, 2014. – 19 с.
18. Торчик, В. И. Технологический регламент выращивания посадочного материала садовых форм кипарисовика горохоплодного / В. И. Торчик, А. Ф. Келько, Г. А. Холопук. – Минск : Право и экономика, 2014. – 17 с.
19. Торчик, В. И. Технологический регламент выращивания посадочного материала садовых форм елей и тсуги канадской / В. И. Торчик, Г. А. Холопук, А. Ф. Келько. – Минск : Право и экономика, 2014. – 20 с.
20. Торчик, В. И. Технологический регламент выращивания посадочного материала привитых садовых форм хвойных древесных видов / В. И. Торчик, Г. А. Холопук. – Минск : Право и экономика, 2015. – 24 с.

### References

1. Torchik V. I., Antonyuk E. D. *Ornamental forms of conifers*. Minsk, Edit VV Publ., 2007. 152 p. (in Russian).
2. Nesterovich N. D. (ed.). *Introduced trees and shrubs in the Byelorussian SSR. Iss. 3. Introduced woody plants of the flora of Siberia, Europe, the Mediterranean, Crimea, the Caucasus and Central Asia*. Minsk, Publishing house of the Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, 1961. 335 p. (in Russian).
3. Fedoruk A. T. *Introduced trees and shrubs of the western part of Belarus*. Minsk, Publishing house of the Belarusian State University, 1972. 192 p. (in Russian).
4. Fedoruk A. T. *Woody plants gardeners and parks in Belarus*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1980. 205 p. (in Russian).
5. Fedoruk A. T. *Garden art of Belarus*. Minsk, Uradzhai Publ., 1989. 247 p. (in Russian).
6. Bärtels A. *Gehölzvermehrung*. Stuttgart, Ulmer, 1978. 328 S.
7. Hoffman M. H. A. (ed.). *List of Names of Woody Plants – International Standard ENA 2005–2010*. Wageningen, Applied Plant Research, 2005. 871 p.
8. Auders A. G., Spicer D. P. *Encyclopedia of Conifers*. Woking, United Kingdom, Royal Horticultural Society, 2012. 1500 p.
9. Lapin P. I. (ed.). *The methodology of phenological observations in the botanical gardens of the USSR: collection of articles*. Moscow, Publishing House of the Main Botanical Garden of the USSR Academy of Sciences, 1975. 135 p. (in Russian).
10. Lapin P. I., Sidneva S. V. Assessment of the prospects of introduction of woody plants according to visual observations. *Opyt introduktsii drevesnykh rastenii: sbornik nauchnykh rabot* [The experience of introduction of woody plants: a collection of scientific works]. Moscow, 1973, pp. 7–67 (in Russian).
11. Ivanova Z. Ya. *Biological basis and methods of vegetative propagation of woody plants with stem cuttings*. Kiev, Navukova dumka Publ., 1982. 288 p. (in Russian).

12. Treivas L. Yu. *Diseases and pests of roses, conifers and other ornamental plants: atlas-determinant*. Moscow, Fiton XXI Publ., 2017. 360 p. (in Russian).
13. Timofeeva V. A., Dishuk N. G., Voinilo N. V., Linnik L. I., Golovchenko L. A. *Diseases and pests of ornamental plants in plantations of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 185 p. (in Russian).
14. Gorlenko S. V., Pan'ko N. A. *Pests and diseases of introduced plants*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1967. 136 p. (in Russian).
15. Torchik V. I., Kel'ko A. F., Kholopuk G. A. *Rizogenesis in ornamental garden forms of conifers and ways of its intensification*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2017. 218 p. (in Russian).
16. Torchik V. I., Kel'ko A. F., Kholopuk G. A. *Technological regulations for growing planting material of junipers*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2014. 24 p. (in Russian).
17. Torchik V. I., Kel'ko A. F., Kholopuk G. A. *Technological regulations for growing planting material of garden yew forms*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2014. 19 p. (in Russian).
18. Torchik V. I., Kel'ko A. F., Kholopuk G. A. *Technological regulations for growing planting material of garden forms of cypress*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2014. 17 p. (in Russian).
19. Torchik V. I., Kholopuk G. A., Kel'ko A. F. *Technological regulations for growing planting material of garden forms of spruce and tsuga canadian*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2014. 20 p. (in Russian).
20. Torchik V. I., Kholopuk G. A. *Technological regulations for growing planting material of grafted garden forms of coniferous tree species*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2015. 24 p. (in Russian).

### **Информация об авторе**

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

### **Information about the author**

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

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 634.739.3:736(476)  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-220-228>

Поступила в редакцию 23.12.2019  
Received 23.12.2019

**Ж. А. Рупасова, Т. И. Василевская, Н. Б. Криницкая, В. С. Задаля,  
Н. Б. Павловский, О. В. Чижик, В. Л. Филипеня**

*Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СПОСОБА ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ СОРТОВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПЛОДОВ**

**Аннотация.** Приведены результаты сравнительного исследования основных показателей биохимического состава плодов одновозрастных генеративных растений 5 интродуцированных сортов *V. corymbosum* разных сроков созревания – раннеспелого *Weymouth*, среднеспелых *Bluecrop* и *Concord*, позднеспелых *Elizabeth* и *Atlantic*, полученных традиционным (стеблевым черенкованием) и микроклональными способами вегетативного размножения. Установлено существенное влияние способа размножения на биохимический состав плодов, степень которого определялась химической природой его компонентов и генотипом растений. В зависимости от последнего в плодах клонированных растений выявлены неоднозначные изменения (в пределах 5–40 % относительно традиционных растений) в содержании сухих веществ, свободных органических, аскорбиновой и гидроксицикоричных кислот, растворимых сахаров и пектиновых веществ, а также показателя сахарокислотного индекса. У большинства сортов различия между клонированными и традиционными растениями в накоплении биофлавоноидов характеризовались общей тенденцией – увеличением в первом случае их общего количества на 5–27 %, в том числе антоциановых пигментов – на 6–34 %. Установлено наибольшее позитивное влияние микроклонального способа размножения на содержание Р-витаминов в плодах позднеспелых сортов, особенно сорта *Atlantik*, при меньшей (в 3–6 раз) степени такого воздействия у сортов *Weymouth* и *Concord* на фоне доминирования отрицательного влияния у среднеспелого сорта *Bluecrop*. При относительной устойчивости соотношения компонентов Р-витаминного комплекса плодов голубики при использовании указанных способов размножения выявлены существенные сдвиги в составе антоцианового комплекса клонированных растений раннеспелого и особенно среднеспелых сортов в сторону снижения доли собственно антоцианов и увеличения таковой лейкоантоцианов по сравнению с традиционными растениями, достигавшие 1,5–1,6-кратной величины у сорта *Concord* при противоположной направленности менее выраженных сдвигов у позднеспелых сортов.

У клонированных растений (за исключением сорта *Bluecrop*) установлен в 2,6–4,4 раза более высокий, нежели у их традиционных аналогов, интегральный уровень питательной и витаминной ценности плодов по совокупности 14 показателей биохимического состава при расположении сортов в соответствии со снижением степени данных различий в ряду: *Atlantik* > *Elizabeth* > *Weymouth* > *Concord* > *Bluecrop*, в котором наибольшими преимуществами в этом плане характеризовались позднеспелые сорта голубики.

**Ключевые слова:** голубика, сорта, черенкование и микроклональные способы вегетативного размножения, плоды, биохимический состав, органические кислоты, углеводы, биофлавоноиды

**Для цитирования:** Оценка влияния способа вегетативного размножения сортов *Vaccinium corymbosum* L. на биохимический состав плодов / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. наук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 220–228. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-220-228>

**Zhanna A. Rupasova, Tamara I. Vasilevskaya, Natalia B. Krinitskaya, Viktoryia S. Zadalia,  
Nikolay B. Pavlovsky, Olga V. Chizhik, Veronika L. Filipenia**

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

## **ASSESSMENT OF INFLUENCE OF THE METHOD OF VEGETATIVE PROPAGATION OF VARIETIES OF *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. ON THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF THE FRUITS**

**Abstract.** The results of a comparative study of the main characteristics of the biochemical composition of fruits of the same age of generative plants of 5 introduced varieties of *V. corymbosum* of different ripening dates – early ripening *Weymouth*, mid-ripening *Bluecrop* and *Concord*, late ripening *Elizabeth* and *Atlantic* obtained by traditional (stem-cuttings) and microclonal vegetative methods are presented. A significant effect of the propagation method on the biochemical composition of the fruits, the degree of which was determined by the chemical nature of its components and the plant genotype, was established. In the fruits of cloned plants, depending on the genotype, ambiguous changes in the range of 5–40 %, relative to traditional plants, in the content of solids, free organic, ascorbic and hydroxycinnamic acids, soluble sugars and pectin substances, as well as the index of sugar acid index, were revealed. For most varieties, a common trend in the nature of differences between cloned and traditional plants in the accumulation of bioflavonoids was shown, consisting in the

increase in the first case of their total number by 5–27 %, including 6–34 % of anthocyanin pigments. The greatest positive effect of the microclonal propagation method on the content of P-vitamins in fruits of late ripening varieties, especially *Atlantik*, was found, with a 3–6 times lesser degree of similar influence in *Weymouth* and *Concord* varieties, against the background of the prevailing negative effect in mid-ripening *Bluecrop*. With the relative stability of the ratio of the components of the P-vitamin complex of blueberry fruits to the tested propagation methods, significant shifts were revealed in the composition of their anthocyanin complex in cloned plants of early ripening and especially mid-ripening varieties towards a decrease in the proportion of anthocyanins proper and an increase in that of leucoanthocyanins, compared to traditional plants, reaching 1.5–1.6-fold value in *Concord* variety with the opposite direction of less pronounced shifts in late-ripening varieties.

In cloned plants (with the exception of the *Bluecrop* variety), the integral level of the nutritional and vitamin value of the fruits was found to be 2.6–4.4 times higher than their traditional counterparts by a total of 14 indicators of the biochemical composition when the varieties were arranged in accordance with a decrease in the degree of data differences in the series: *Atlantik* > *Elizabeth* > *Weymouth* > *Concord* > *Bluecrop*, in which late ripe varieties of blueberries were characterized by the greatest advantages.

**Keywords:** blueberries, varieties, cuttings and microclonal methods of vegetative propagation, fruits, biochemical composition, organic acids, carbohydrates, bioflavonoids

**For citation:** Rupasova Zh. A., Vasilevskaya T. I., Krinitskaya N. B., Zadalia V. S., Pavlovsky N. B., Chizhik O. V., Filipenia V. L. Assessment of influence of the method of vegetative propagation of varieties of *Vaccinium corymbosum* L. on the biochemical composition of the fruits. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 220–228 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-220-228>

**Введение.** В связи с прогрессирующим увеличением в Беларуси площадей промышленных плантаций голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) существенно возросли потребности специализированных хозяйств в посадочном материале данной культуры. Основным способом его получения является вегетативное размножение растений посредством укоренения стеблевых черенков, наряду с которым все большее распространение получает микрклональный способ размножения (*in vitro*), обладающий рядом преимуществ по сравнению с традиционным. В частности, он значительно ускоряет процесс получения оздоровленного посадочного материала и позволяет существенно увеличить коэффициент размножения одного маточного растения. Вместе с тем научные исследования по оценке влияния традиционного и культурального способов вегетативного размножения на дальнейший рост, развитие и плодоношение интродуцированных сортов голубики в нашей стране носят весьма ограниченный и фрагментарный характер [1]. Тем не менее они, как и выполненные нами аналогичные исследования с брусникой обыкновенной и рододендромом [2, 3], выявили существенную зависимость содержания в листовой ткани фотосинтезирующих пигментов, макро- и микроэлементов, ряда органических кислот, углеводов, основных групп биофлавоноидов, а также активности окислительно-восстановительных ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы от способа вегетативного размножения при весьма значительной сортоспецифичности ответной реакции на него данных растений. Основываясь на результатах упомянутых выше работ, логично предположить, что способ вегетативного размножения голубики может оказать определенное влияние на биохимический состав не только ассимилирующих, но и генеративных органов, что непременно скажется на интегральном уровне питательной и витаминной ценности ее ягодной продукции.

С целью установления степени возможного влияния на качество плодов голубики способа вегетативного размножения, на научно-экспериментальной базе Центрального ботанического сада НАН Беларуси (Ганцевичский р-н Брестской обл.), расположенной в центральной агроклиматической зоне Беларуси в районе распространения легких песчаных дерново-подзолистых почв и осушенных верховых торфяников, в опытной культуре проведено сравнительное исследование основных характеристик биохимического состава плодов одновозрастных генеративных растений 5 интродуцированных сортов *V. corymbosum* разных сроков созревания – раннеспелого *Weymouth*, среднеспелых *Bluecrop* и *Concord*, позднеспелых *Elizabeth* и *Atlantic*, полученных традиционным (стеблевым черенкованием) и микрклональными способами вегетативного размножения.

**Материалы и методы исследования.** Сравнительную оценку биохимического состава зрелых плодов опытных растений осуществляли по широкому спектру показателей, относящихся к разным классам действующих веществ. В свежих усредненных пробах определяли содержание сухих веществ – по ГОСТ 28561-90 [4]; аскорбиновой кислоты (витамина С) – стандартным индо-

фенольным методом [5]; титруемых кислот (общей кислотности) – объемным методом [5]. В высушенных при температуре 60 °С пробах растительного материала определяли содержание гидроксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую) – спектрофотометрическим методом [6]; растворимых сахаров – ускоренным полумикрометодом [7]; пектиновых веществ – кальциево-пектатным методом [5]; суммы антоциановых пигментов – по методу T. Swain, W. E. Hillis [8] (с построением градуировочной кривой по кристаллическому цианидину, полученному из плодов аронии черноплодной и очищенному по методике Ю. Г. Скориковой и Э. А. Шафтан [9]); собственно антоцианов и суммы катехинов (с использованием ванилинового реактива) – фотоэлектроколориметрическим методом [5, 10]; суммы флавонолов (в пересчете на рутин) – спектрофотометрическим методом [5]; дубильных веществ – титрометрическим методом Левенталея [11]. Все аналитические определения выполнены в трехкратной биологической повторности. Данные статистически обработаны с использованием программы Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Исследование биохимического состава плодов голубики выявило весьма существенные генотипические и межвариантные различия в содержании изучаемых соединений. По нашим оценкам, содержание сухих веществ в плодах традиционных и меристемных растений варьировалось сортовым рядом в довольно близких между собой и при этом весьма широких диапазонах значений – соответственно 13,1–16,1 и 12,5–16,2 % при содержании в сухой массе свободных органических кислот 2,44–5,48 и 2,44–5,81%, аскорбиновой кислоты – 382,0–473,1 и 344,9–516,3 мг/100 г и гидроксикоричных кислот – 473,3–657,7 и 538,4–606,7 мг/100 г. Подобный диапазон варьирования содержания растворимых сахаров в сухой массе плодов традиционных растений охватывал область более высоких, нежели у их клонированных аналогов, значений – соответственно 40,3–50,0 % против 39,7–45,3 %. Во втором случае это свидетельствовало о некотором ослаблении биосинтеза данных углеводов, что у ряда сортов голубики отрицательно сказалось на показателе сахарокислотного индекса, несмотря на относительную сопоставимость диапазонов его изменения в таксономическом ряду при данных способах размножения в пределах 8,3–17,2 и 6,8–18,6. Важнейшим компонентом углеводного пула являются также пектиновые вещества, содержание которых в сухой массе плодов у растений, полученных *in vivo*, варьировалось в сортивном ряду в диапазоне более низких, чем у их клонированных аналогов, значений – соответственно 4,40–6,69 % против 4,84–7,08 %.

Независимо от способа размножения голубики, общее содержание в сухой массе плодов биофлавоноидов (витаминов группы P), как и их отдельных соединений, изменялось в сортивном ряду в весьма широком диапазоне значений: у традиционных растений – от 9768 до 14560 мг/100 г при суммарном содержании антоциановых пигментов 6582–11436 мг/100 г (в том числе собственно антоцианов – 4107–7420 мг/100 г, лейкоантоцианов – 2032–4690 мг/100 г), катехинов – от 746 до 1198 мг/100 г, флавонолов – от 1941 до 2048 мг/100 г. При этом аналогичные диапазоны варьирования данных показателей у клонированных растений голубики составляли (в мг/100 г): для общего количества биофлавоноидов – 8644–15335, для антоциановых пигментов – 5642–12103 (из них собственно антоцианов – 3150–7560, лейкоантоцианов – 2492–6309), для катехинов – 737–1411, для флавонолов – 1819–2415. Что касается дубильных веществ, также относящихся к фенольным соединениям, то их содержание в плодах меристемных растений соответствовало области более низких, чем у обычных растений, значений – 0,96–1,83 % против 1,17–2,04 %.

Приведенные выше диапазоны варьирования в таксономическом ряду количественных характеристик биохимического состава плодов меристемных растений голубики были заметно шире, чем у растений, полученных методом стеблевого черенкования, что указывало на усиление сортовых различий в содержании изучаемых соединений. При этом наличие более высоких значений в основном на верхней границе этих диапазонов свидетельствовало о стимулирующем действии микроклонального способа размножения на процессы биосинтеза органических соединений. На наш взгляд, это связано с позитивным отдаленным влиянием на них оптимально сбалансированной, насыщенной гормонами биологически активной питательной среды на самых ранних этапах формирования меристемных растений, которая обеспечила в дальнейшем более высокий, чем у их традиционных аналогов, потенциал развития генеративной сферы.

Вместе с тем влияние способа вегетативного размножения голубики на отдельные характеристики биохимического состава плодов оказалось неоднозначным при весьма выразительных сортовых различиях ответной реакции на него опытных растений. Как следует из табл. 1, меристемные растения сортов *Weymouth* и *Bluecrop* отличались от своих аналогов, полученных из стеблевых черенков, достоверно меньшим (на 5–9 %) содержанием в плодах сухих веществ, тогда как у сорта *Concord* их количество, напротив, было на 8 % выше, а у обоих позднеспелых сортов подобные различия вообще отсутствовали.

Таблица 1. Относительные различия количественных характеристик биохимического состава плодов *V. corymbosum* при разных способах вегетативного размножения (*in vitro/in vivo*), %

Table 1. Relative differences in the quantitative characteristics of the biochemical composition of *V. corymbosum* fruits in different methods of vegetative propagation (*in vitro/in vivo*), %

Показатель	<i>Weymouth</i>	<i>Bluecrop</i>	<i>Concord</i>	<i>Elizabeth</i>	<i>Atlantik</i>
Сухие вещества	–4,6	–9,2	+8,2	–	–
Свободные органические кислоты	–	+40,0	–8,0	+27,5	–
Аскорбиновая кислота	+27,4	–	–	–9,7	+5,3
Гидроксикоричные кислоты	–	–11,9	–	+28,2	+14,8
Растворимые сахара	+7,9	–	–	–	–16,0
Сахарокислотный индекс	+8,1	–29,9	+8,4	–23,7	–16,1
Пектиновые вещества	+10,0	+13,3	+10,0	+5,5	+5,8
Собственно антоцианы	–	–30,8	–27,5	+33,7	+33,0
Лейкоантоцианы	+13,1	+22,6	+67,1	–	+34,5
Общее к-во антоциановых пигментов	+5,8	–14,3	+6,5	+16,0	+33,8
Катехины	–6,4	–	–	+20,8	+6,3
Флавонолы	+9,4	–10,5	–	+17,9	+10,0
Общее к-во биофлавоноидов	+5,3	–11,5	+4,5	+16,8	+27,1
Дубильные вещества	–13,2	–17,9	–5,2	–5,8	–6,4

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

Способ размножения не оказал достоверного влияния на содержание свободных органических кислот в плодах сортов *Weymouth* и *Atlantik*, но обусловил значительную активизацию их накопления (на 28 и 40 %) у меристемных растений сортов *Bluecrop* и *Elizabeth* при его ослаблении на 8 % у сорта *Concord*. У клонированных растений сортов *Atlantik* и особенно у *Weymouth* установлено на 5 и 27 % более высокое, а у сорта *Elizabeth*, напротив, на 10 % меньшее, чем у обычных растений, содержание в плодах аскорбиновой кислоты. В то же время у обоих среднеспелых сортов, у которых, как и у позднеспелого сорта *Elizabeth*, способ размножения не влиял на накопление в них растворимых сахаров, поскольку достоверных различий не выявлено. При этом плоды меристемных растений раннеспелого сорта *Weymouth* характеризовались на 8 % более высоким, а плоды позднеспелого сорта *Atlantik* на 16 % более низким их содержанием, чем плоды традиционных растений. Выявленные различия темпов биосинтеза титруемых кислот и растворимых сахаров, в зависимости от способа вегетативного размножения голубики, обусловили у клонированных растений сорта *Bluecrop* и у обоих позднеспелых сортов на 16–30 % более низкие, а у сортов *Weymouth* и *Concord*, напротив, на 8 % более высокие значения сахарокислотного индекса плодов, чем у растений, размноженных черенкованием (табл. 1), что свидетельствовало об ухудшении их вкусовых свойств в первом случае и улучшении – во втором. Заметим, что только для двух последних сортов не установлено влияния способа размножения на содержание в плодах гидроксикоричных кислот, тогда как клонированные растения позднеспелых сортов, особенно *Elizabeth*, характеризовались на 15–28 % более высоким, а сорта *Bluecrop*, напротив, на 12 % более низким их содержанием, чем традиционные растения. Вместе с тем плоды клонированных растений были на 6–13 % богаче плодов обычных растений пектиновыми веществами при максимальных, причем сходных различиях у раннеспелого и обоих среднеспелых сортов и минимальных, уступавших им примерно вдвое, у обоих позднеспелых сортов.

В отличие от большинства рассмотренных выше показателей биохимического состава плодов голубики, для которых у опытных сортов не было выявлено заметной общности тенденций в характере различий между меристемными и традиционными растениями, для содержания биофлавоноидов и их отдельных групп подобная общность прослеживалась весьма отчетливо. Так, в большинстве случаев клонированные растения, особенно позднеспелых сортов, характеризовались на 5–27 % более высоким общим накоплением в плодах Р-витаминов (в том числе антоциановых пигментов – на 6–34 %), чем обычные растения, и лишь для сорта *Bluecrop* было показано отставание по данным признакам соответственно на 12 и 14 %. Между меристемными и традиционным растениями обоих среднеспелых сортов голубики были выявлены противоположные по знаку различия в содержании в плодах основных компонентов антоцианового комплекса, наиболее выразительные у сорта *Concord*, состоявшие в первом случае в более низком (на 28–31 %) содержании собственно антоцианов, во втором – в более высоком (на 23–67 %) содержании лейкоантоцианов. При этом у меристемных растений позднеспелого сорта *Atlantik* более активное, чем у традиционных растений, обогащение антоцианового комплекса плодов обеспечивалось пропорциональным усилением накопления его обоих компонентов на 33–35 %, тогда как у второго позднеспелого сорта *Elizabeth* это происходило в результате активизации биосинтеза только собственно антоцианов (на 34 %), а у раннеспелого сорта *Weymouth* – лейкоантоцианов (на 13 %) (табл. 1).

Что касается катехинов и флавонолов, то в характере различий их содержания в плодах голубики в зависимости от способа размножения растений, как и содержания антоциановых пигментов, наиболее выраженное сходство тенденций было установлено у позднеспелых сортов. Оно состояло в более активном накоплении данных соединений в плодах меристемных, нежели обычных растений (у сорта *Elizabeth* – на 21 и 18 %, у сорта *Atlantik* – на 6 и 10 %). Как видим, в данном случае различия между растениями, полученными разными способами, наиболее выразительно проявились у сорта *Elizabeth*, тогда как в отношении содержания антоциановых пигментов – у сорта *Atlantik*. При этом у обоих среднеспелых сортов голубики не установлено достоверного влияния способа размножения на содержание в плодах катехинов, а у сорта *Concord* также и флавонолов, для которых у сорта *Bluecrop*, как и для антоциановых пигментов, было показано ослабление накопления в плодах меристемных растений, по сравнению с традиционными, на 11%, что, в свою очередь, негативно сказалось на общем содержании в них Р-витаминов (см. табл. 1). У клонированных растений раннеспелого сорта *Weymouth* были установлены противоположные по знаку различия с традиционными растениями в содержании катехинов и флавонолов – отставание на 6 % в первом случае и превышение на 9 % во втором, что в сочетании с упомянутой выше слабой активизацией биосинтеза антоциановых пигментов, не превышавшей 6 %, обеспечило весьма незначительное обогащение Р-витаминного комплекса его плодов, сопоставимое по величине с таковым у меристемных растений сорта *Concord*. Следует отметить, что использование микроклонального способа размножения голубики оказало наиболее существенное позитивное влияние на накопление этих самых ценных в физиологическом плане соединений в плодах позднеспелых сортов, особенно у сорта *Atlantik*, при меньшей в 3–6 раз степени его аналогичного воздействия на биофлавоноидный комплекс плодов раннеспелого и среднеспелого сорта *Concord* и при доминировании отрицательного воздействия на таковой среднеспелого сорта *Bluecrop*.

На фоне заметного сходства в характере ответной реакции Р-витаминного комплекса опытных сортов голубики на способы вегетативного размножения растений генотипические различия темпов биосинтеза в плодах основных групп полифенолов обусловили заметные изменения соотношения их долей в составе данного комплекса (табл. 2). Установлено, что у большинства сортов применение обоих способов размножения не оказало существенного влияния на относительную долю в нем антоциановых пигментов, и лишь у клонированных растений сортов *Bluecrop* и *Atlantik* отмечалось ее незначительное снижение в первом случае и увеличение – во втором. Однако в составе самого антоцианового комплекса плодов раннеспелого и особенно обоих среднеспелых сортов произошли заметные сдвиги в сторону снижения доли собственно антоцианов и увеличения таковой лейкоантоцианов по сравнению с традиционными растениями.

В наибольшей степени это проявилось у сорта *Concord*, у которого эти сдвиги достигали 1,5–1,6-кратной величины.

Отмеченные сдвиги в составе антоцианового комплекса плодов только у сорта *Bluecrop* и в меньшей степени у сорта *Weymouth* сопровождались незначительным увеличением доли катехинов и флавонолов в пуле Р-витаминов. При этом у меристемных растений позднеспелых сортов выявленные изменения в антоциановом комплексе плодов имели противоположную направленность и отличались не ослаблением, а, напротив, усилением в нем позиций собственно антоцианов при снижении относительной доли лейкоантоцианов у сорта *Elizabeth* и увеличении ее у сорта *Atlantik*, что приводило к ослаблению в составе Р-витаминов роли и катехинов, и флавонолов. Подобно биофлавоноидам, для содержания дубильных веществ в плодах всех модельных сортов голубики была выявлена отчетливая общность тенденций в характере различий между клонированными и обычными растениями. Как следует из табл. 1, в первом случае оно было на 5–18 % ниже, чем во втором, при наибольших различиях у сортов *Weymouth* и особенно *Bluecrop* и наименьших у сорта *Concord*.

Таблица 2. Долевое участие основных групп биофлавоноидов в составе Р-витаминного комплекса плодов сортов *V. corymbosum* при разных способах вегетативного размножения, %

Table 2. Share of the main groups of bioflavonoids in the P-vitamin complex of fruits of varieties *V. corymbosum* with different methods of vegetative propagation, %

Сорт	Способ размножения	Собственно антоцианы	Лейко-антоцианы	Сумма антоц. пигм.	Катехины	Флавонолы
<i>Weymouth</i>	<i>in vivo</i>	51	28	79	8	13
	<i>in vitro</i>	49	30	79	7	14
<i>Bluecrop</i>	<i>in vivo</i>	47	21	68	12	20
	<i>in vitro</i>	36	29	65	14	21
<i>Concord</i>	<i>in vivo</i>	48	27	75	7	18
	<i>in vitro</i>	33	42	75	7	18
<i>Elizabeth</i>	<i>in vivo</i>	37	35	72	10	18
	<i>in vitro</i>	42	30	72	10	18
<i>Atlantik</i>	<i>in vivo</i>	34	39	73	10	17
	<i>in vitro</i>	36	41	77	8	15

Таким образом, результаты данных исследований убедительно показали существенное влияние способа вегетативного размножения *V. corymbosum* на биохимический состав плодов, степень которого определялась химической природой его компонентов и генотипом растений. Для объективного представления о степени воздействия данного фактора на интегральный уровень питательной и витаминной ценности ягодной продукции модельных сортов, оцениваемой по совокупности 14 показателей ее биохимического состава, был применен собственный методический прием, защищенный патентом [12] и основанный на сопоставлении у тестируемых объектов количеств, относительных размеров, амплитуд и соотношений статистически достоверных положительных и отрицательных различий клонированных и традиционных растений по данному признаку. При этом показатели соотношения количества положительных и отрицательных различий, превышавшие 1, указывали на преобладание у каждого таксона голубики частоты проявления преимуществ в их биохимическом составе относительно обычных растений, тогда как при их значениях менее 1 – на преобладание случаев проявления отрицательных различий с ними. По величине суммарной амплитуды выявленных отклонений, независимо от их знака, можно было судить о степени выраженности различий клонированных и традиционных растений по совокупности исследуемых признаков, что позволяло провести ранжирование сортов голубики в порядке снижения степени данных различий. При этом по величине соотношения относительных размеров позитивных и негативных сдвигов в биохимическом составе плодов клонированных растений каждого сорта относительно растений, полученных обычным способом, можно было дать оценку степени и направленности выявленных в нем изменений.

Представленные в табл. 3 данные, характеризующие количество, направленность и степень выраженности сдвигов в биохимическом составе плодов клонированных растений исследуемых сортов *V. corymbosum* по 14 показателям относительно их традиционных аналогов показали наличие заметных генотипических различий в направленности и величине вышеуказанных сдвигов, свидетельствующих о разной степени влияния способа размножения растений на интегральный уровень питательной и витаминной ценности их плодов. При этом количество позитивных отклонений клонированных растений от их традиционных экспериментальных аналогов по совокупности анализируемых признаков у всех таксонов голубики, за исключением сорта *Bluecrop*, в 2–3 раза превышало таковое негативных, что в целом свидетельствовало о большей частоте проявления у первых положительных сдвигов в биохимическом составе плодов относительно вторых и в наибольшей степени характеризовало позднеспелый сорт *Atlantik*, а в наименьшей – среднеспелый сорт *Concord*. Исключением в этом ряду явился второй среднеспелый сорт *Bluecrop*, у которого количество подобных отрицательных сдвигов, напротив, превышало таковое положительных в 2,7 раза. При этом амплитуда выявленных различий, указывающая на степень их проявления, независимо от направленности, варьировалась в таксономическом ряду в весьма широком диапазоне – от 111,2 % у раннеспелого сорта *Weymouth* до 211,9 % у сорта *Bluecrop*. Вместе с тем данный показатель не может служить критерием, свидетельствующим о преимуществе клонированных растений относительно их традиционных аналогов в содержании в плодах исследуемых соединений, поскольку указывает лишь на величину и направленность выявленных расхождений. Наиболее же объективное представление в этом плане может дать кратный размер соотношения относительных величин совокупностей достоверных положительных и отрицательных сдвигов в биохимическом составе плодов, варьировавшийся в таксономическом ряду в диапазоне значений от 0,6 у сорта *Bluecrop* до 4,3–4,4 у позднеспелых сортов *Elizabeth* и *Atlantik*. На основании сопоставления значений данного признака у тестируемых объектов проведено их ранжирование в пределах таксономического ряда в соответствии со снижением степени различий между клонированными и обычными растениями по интегральному уровню питательной и витаминной ценности плодов, позволившее расположить их в следующей последовательности: *Atlantik* > *Elizabeth* > *Weymouth* > *Concord* > *Bluecrop*.

Т а б л и ц а 3. Значения количеств, относительных размеров, амплитуд и соотношений разноориентированных различий клонированных и традиционных растений сортов *V. corymbosum* по биохимическому составу плодов, %

Table 3. Values of quantities, relative sizes, amplitudes and ratios of differently oriented differences between cloned and traditional plants of *V. corymbosum* varieties by the biochemical composition of fruits, %

Сорт	К-во сдвигов, шт.			Относительные размеры сдвигов, %			
	полож.	отриц.	полож/отриц.	полож.	отриц.	амплитуда	полож/отриц.
<i>Weymouth</i>	8	3	2,7	87,0	24,2	111,2	3,6
<i>Bluecrop</i>	3	8	0,4	75,9	136,0	211,9	0,6
<i>Concord</i>	6	3	2,0	104,7	40,7	145,4	2,6
<i>Elizabeth</i>	8	3	2,7	166,4	39,2	205,6	4,3
<i>Atlantik</i>	9	3	3,0	170,6	38,5	209,1	4,4

Как видим, наибольшими преимуществами по данному признаку характеризовались клонированные растения наиболее урожайных позднеспелых сортов *V. corymbosum*, что было обусловлено главным образом более высоким, чем у их традиционных аналогов, содержанием в плодах гидроксикоричных кислот, пектиновых веществ и основных компонентов биофлавоноидного комплекса. В то же время подобные преимущества у сортов *Weymouth* и *Concord*, уступавших по качеству плодов лидирующим сортам в 1,2 и 1,7 раза, обеспечивались в основном более высокими, чем у обычных растений, значениями их сахарокислотного индекса, а также содержанием пектиновых веществ и лейкоантоцианов, а в первом случае – также содержанием аскорбиновой кислоты, растворимых сахаров и флавонолов. При этом клонированные растения сорта *Bluecrop*, замыкавшего приведенный ряд, напротив, уступали традиционным аналогам в содержании в плодах большинства исследуемых соединений, за исключением титруемых кислот, пектиновых веществ и лейкоантоцианов.

**Заклучение.** В результате исследований установлено, что вегетативный способ размножения *V. corymbosum* оказывает существенное влияние на биохимический состав плодов, степень которого определяется химической природой его компонентов и генотипом растений. В плодах клонированных растений выявлены позитивные изменения (относительно традиционных растений) в пределах 5–40 % в содержании сухих веществ у сорта *Concord*, титруемых кислот у сортов *Bluecrop* и *Elizabeth*, аскорбиновой кислоты у сортов *Weymouth* и *Atlantic*, гидроксикоричных кислот у обоих позднеспелых сортов, растворимых сахаров у сорта *Weymouth*, пектиновых веществ у всех без исключения сортов при увеличении сахарокислотного индекса у сортов *Weymouth* и *Concord* на фоне снижения на 5–31 % содержания сухих веществ у сортов *Weymouth* и *Bluecrop*, титруемых кислот у сорта *Concord*, аскорбиновой кислоты у сорта *Elizabeth*, гидроксикоричных кислот у сорта *Bluecrop*, растворимых сахаров у сорта *Atlantic*, дубильных веществ у всех без исключения сортов при снижении сахарокислотного индекса у сорта *Bluecrop* и обоих позднеспелых сортов.

У большинства модельных сортов голубики выявлена общность тенденций в характере различий между меристемными и традиционными растениями в накоплении биофлавоноидов, состоявшая в увеличении в первом случае их общего количества на 5–27 %, в том числе на 6–34 % антоциановых пигментов. Установлено наиболее существенное позитивное влияние микроклонального способа размножения на содержание полифенолов в плодах позднеспелых сортов, особенно сорта *Atlantik*, при в 3–6 раз меньшей степени подобного влияния на биофлавоноидный комплекс сортов *Weymouth* и *Concord* на фоне доминирования отрицательного влияния на него у среднеспелого сорта *Bluecrop*. При относительной устойчивости соотношения компонентов Р-витаминного комплекса плодов голубики к испытываемым способам размножения выявлены существенные сдвиги в составе их антоцианового комплекса у клонированных растений раннеспелого и особенно среднеспелых сортов в сторону снижения доли собственно антоцианов и увеличения таковой лейкоантоцианов по сравнению с традиционными растениями, достигавшие 1,5–1,6-кратной величины у сорта *Concord* при противоположной направленности менее выраженных аналогичных сдвигов у позднеспелых сортов.

У клонированных растений (за исключением сорта *Bluecrop*) выявлен в 2,6–4,4 раза более высокий, нежели у их традиционных аналогов, интегральный уровень питательной и витаминной ценности плодов по совокупности 14 показателей биохимического состава (ряд органических кислот, углеводов и биофлавоноидов) при расположении сортов в соответствии со снижением степени данных различий в ряду: *Atlantik* > *Elizabeth* > *Weymouth* > *Concord* > *Bluecrop*, в котором наибольшими преимуществами в этом плане характеризовались позднеспелые сорта голубики.

#### Список использованных источников

1. Влияние способов размножения на химический состав листьев растений семейства Брусничные. Сообщение 2. – Голубика высокая / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вес. Акад. аграр. навук Беларусі. – 1998. – № 1. – С. 44–49.
2. Влияние способов размножения на химический состав листьев растений семейства Брусничные. Сообщение 2. – Брусника обыкновенная / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вес. Акад. аграр. навук Беларусі. – 1997. – № 3. – С. 48–52.
3. Влияние способов размножения на химический состав листьев рододендрона (*Rhododendron L.*) / Ж. А. Рупасова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2000. – № 3. – С. 11–16.
4. Методы определения сухих веществ: ГОСТ 8756.2-82. – Введен 01.01.1983. – М. : Изд-во стандартов, 1982. – 5 с.
5. Методы биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова. – 3-е изд., перераб. и доп. – Ленинград : Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. – 430 с.
6. 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.
7. Плешков, Б. П. Практикум по биохимии растений / Б. П. Плешков. – 3-е изд., доп. и перераб. – М. : Колос, 1985. – 255 с.
8. 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>
9. 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.
10. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В. Ю. Андреева [и др.] // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 19–21.
11. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Государственная фармакопея СССР. – М., 1987. – Вып. 1: Общие методы анализа. – С. 286–287.
12. Способ ранжирования таксонов растения: пат. на изобретение №17648 / Ж. А. Рупасова, В. Н. Решетников, А. П. Яковлев ; дата публ. 08.07.2013.

## References

1. Rupasova Zh. A., Kutas E. N., Ignatenko V. A., Rusalenko V. A., Rudakovskaya R. N., Varavina N. P., Matyushevskaya E. N. The influence of breeding methods on the chemical composition of leaves of plants of the Cowberry family. Message 2. – Blueberries high. *Vestsi Akademii agrarnykh navuk Belarusi* [Proceedings of the Academy of agricultural sciences of Belarus], 1998, no. 1, pp. 44–49 (in Russian).
2. Rupasova Zh. A., Kutas E. N., Ignatenko V. A., Rusalenko V. A., Rudakovskaya R. N., Varavina N. P., Matyushevskaya E. N. The influence of breeding methods on the chemical composition of leaves of plants of the Cowberry family. Message 2. – Lingonberry ordinary. *Vestsi Akademii agrarnykh navuk Belarusi* [Proceedings of the Academy of agricultural sciences of Belarus], 1997, no. 3, pp. 48–52 (in Russian).
3. Rupasova Zh. A., Kutas E. N., Ignatenko V. A., Rusalenko V. A., Rudakovskaya R. N., Varavina N. P., Matyushevskaya E. N. The influence of breeding methods on the chemical composition of leaves of *Rhododendron L.* *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2000, no. 3, pp. 11–16 (in Russian).
4. State Standard 8756.2-82. *Methods for determination of dry substances*. Moscow, Publishing House for Standards, 1982. 5 p. (in Russian).
5. Yarosh N. I., Ikonnikova M. I., Ermakov A. I., Peruanskii Yu. V., Lukovnikova G. A., Arasimovich V. V. *Methods of biochemical research of plants. 3rd ed.* Leningrad, Agropromizdat. Leningradskoe otdelenie Publ., 1987. 430 p. (in Russian).
6. Marsov N. G. *Phytochemical study and biological activity of cranberries, cranberries and blueberries*. Ph. D. Thesis. Perm', 2006. 200 p. (in Russian).
7. Pleshkov B. P. *Practical work on plant biochemistry. 3rd ed.* Moscow, Kolos Publ., 1985. 255 p. (in Russian).
8. 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>
9. Skorikova Yu. G., Shaftan E. A. Method for the determination of anthocyanins in fruits and berries. *Trudy III Vsesoyuznogo seminar 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).
10. 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).
11. Determination of the content of tannins in medicinal plant raw materials. *Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR* [State pharmacopoeia of the USSR]. Moscow, 1987, iss. 1, pp. 286–287 (in Russian).
12. Rupasova Zh. A., Reshetnikov V. N., Yakovlev A. P. *Method for ranking plant taxa: Patent Rep. of Belarus no. 17648*, 2013 (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

*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

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

*Задаля Виктория Сергеевна* – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zada.93@mail.ru

*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

*Чижик Ольга Владимировна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail chizhikolga17@gmail.com

*Филипеня Вероника Леонидовна* – ст. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: veronika\_filipenia@yahoo.com

## Information about the authors

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

*Tamara I. Vasilevskaya* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov 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, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Viktoryia S. Zadalafilia* – Researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zada.93@mail.ru

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

*Olga V. Chizhik* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail chizhikolga17@gmail.com

*Veronika L. Filipenia* – Senior researcher. Central Botanic Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: veronika\_filipenia@yahoo.com

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 631.81  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-229-238>

Поступила в редакцию 10.05.2019  
Received 10.05.2019

**А. Н. Никитин, О. А. Шуранкова, И. А. Чешик, Г. А. Леферд, Е. В. Мищенко,  
Е. В. Жуковская, Д. В. Сухарева**

*Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь*

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕЖИМА УВЛАЖНЕНИЯ ПОЧВЫ НА НАКОПЛЕНИЕ <sup>137</sup>Cs ПОБЕГАМИ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ**

**Аннотация.** Изучено влияние режима увлажнения почвы на интенсивность перехода <sup>137</sup>Cs в злаковые растения на примере пшеницы яровой. В условиях фитокомнаты с регулируемым климатом выполнен анализ накопления <sup>137</sup>Cs в побегах пшеницы яровой при режимах увлажнения почвы 40 % (недостаточная влагообеспеченность), 70 % (оптимальная влагообеспеченность) и 85 % (избыточная влагообеспеченность) от полной влагоемкости почвы на почвенных субстратах с оптимальным и низким содержанием основных минеральных элементов питания. По результатам вегетационного эксперимента показано, что увеличение влажности почвы от 40 до 85 % от полной влагоемкости существенно снижает содержание <sup>137</sup>Cs в побегах. Характер зависимости между увлажнением и накоплением <sup>137</sup>Cs надземными органами растений определяется агрохимическими особенностями почвы. На субстрате с оптимальным содержанием минеральных элементов питания разница в накоплении радионуклида надземными органами пшеницы между крайними по влагообеспеченности вариантами достигает четырехкратных значений, на субстрате с низким содержанием основных элементов питания – двукратных, при этом различия при влагообеспеченности 70 и 85 % отсутствуют. Выявленные зависимости не могут быть объяснены изменением содержания биодоступных форм <sup>137</sup>Cs в почве, поскольку данный показатель существенно не изменяется при различных режимах увлажнения.

**Ключевые слова:** цезий-137, пшеница, почва, водный режим, коэффициент накопления

**Для цитирования:** Экспериментальная оценка влияния режима увлажнения почвы на накопление <sup>137</sup>Cs побегами яровой пшеницы / А. Н. Никитин [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 229–238. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-229-238>

**Aleksander N. Nikitin, Olga A. Shurankova, Ihar A. Cheshyk, Halina A. Leferd, Yahor V. Mishchenko,  
Evgenia V. Zhukovskaya, Diana V. Sukhareva**

*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus*

## **EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF INFLUENCE OF SOIL MOISTURE ON THE <sup>137</sup>Cs ACCUMULATION IN SHOOTS OF SPRING WHEAT**

**Abstract.** The aim of this research was to analyze the effect of soil moisture regime on the intensity of <sup>137</sup>Cs transfer into cereals using spring wheat as a model species. Accumulation of <sup>137</sup>Cs in shoots of spring wheat grown on soil substrates differ by water and nutrients content was analyzed. The investigated water regimes were 40 % (insufficient moisture supply), 70 % (optimal moisture supply) and 85 % (excessive moisture supply) of full moisture capacity of the soils; substrates with optimal and low content of essential mineral nutrients were used in the experiment. The plants were grown in a chamber with controlled climate conditions. Increasing water content in the soil from 40 to 85 % of the total moisture capacity significantly reduces the <sup>137</sup>Cs content in plants. The shape of the relationship between soil moisture and the soil-to-plant transfer of <sup>137</sup>Cs depends on the agrochemical characteristics of the soil. The difference in the radioisotope accumulation in the shoots of wheat grown on extreme water regimes is about four times when substrate with optimum content of nutrients was used. The difference is less than two times when substrate with a low content of essential nutrients was used; moreover, there are no differences between the 70 and 85 % variants on a substrate with low content of nutrients. The revealed dependencies cannot be explained by the change in the share of bioavailable forms of <sup>137</sup>Cs in the soil since it does not significantly change in soils with different moisture regimes.

**Keywords:** cesium-137, wheat, soil, water regime, soil-to-plant transfer factor

**For citation:** Nikitin A. N., Shurankova O. A., Cheshyk I. A., Leferd H. A., Mishchenko Ya. V., Zhukovskaya E. V., Sukhareva D. V. Experimental assessment of influence of soil moisture on the <sup>137</sup>Cs accumulation in shoots of spring wheat. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 229–238 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-229-238>

**Введение.** Климатические условия на Земле в целом и в отдельных ее регионах, в частности в Республике Беларусь, претерпевают направленные изменения. На территории Беларуси наблюдаются значительное повышение температуры в холодные сезоны года, увеличение испаряемости при сохранении и даже при снижении количества атмосферных осадков в теплый период года, более частые засухи при одновременном увеличении интенсивности экстремальных (ливневых) осадков [1]. Отмечается смещение агроклиматических областей на 60–150 км к северу. Полесье в настоящее время представляет собой более теплую и аридную агроклиматическую зону.

Вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС значительная часть территории Республики Беларусь загрязнена техногенными радионуклидами. Среди них основным дозообразующим является изотоп  $^{137}\text{Cs}$ . Вопрос о том, как отклонения погодных-климатических условий от многолетней нормы влияют на биологическую доступность радионуклидов, изучен крайне недостаточно. М. Dowdall с соавт. [2] указывают на имеющуюся неопределенность в характере изменения коэффициентов накопления радионуклидов растениями при прогнозируемых трендах изменения климата, отмечая при этом необходимость детального изучения данного вопроса, так как поведение радионуклидов в системе почва–растения является ключевым элементом в формировании доз внутреннего облучения человека.

Интенсивность перехода из почвы в растения радиоактивных изотопов щелочных и щелочно-земельных металлов во многом зависит от их распределения в почве, на что в свою очередь оказывают влияние такие факторы, как состав материнской породы и характер ее выветривания, водный режим, ионная сила почвенных растворов, количественные и качественные характеристики органического вещества, pH и окислительно-восстановительный потенциал. Эти показатели прямо или опосредованно изменяются при трансформации водного и теплового режимов территории.

Накопленные к настоящему времени сведения по влиянию влажности почвы на поступление радионуклидов в растения неоднозначны. Это связано со сложным характером взаимовлияния влажности, свойств почвы и биологических особенностей растений на процессы миграции радионуклидов в системе почва–растения. Миграция радиоактивных изотопов в почвах в значительной степени связана с перемещением водных растворов, способствующих гидролизу, выщелачиванию, горизонтальному и вертикальному перемещению химических элементов. В свою очередь водный режим влияет на физико-химическое состояние радионуклидов, их способность переходить в раствор и мигрировать по профилю почв. От влажности почвы зависят и процессы жизнедеятельности растений, в том числе поглощение корневыми системами элементов минерального питания [3, 4].

В серии лабораторных экспериментов изучено распределение ряда техногенных радионуклидов в равновесной системе почва–раствор при изменении в широких пределах соотношений твердой и жидкой фаз почвы. Результаты эксперимента показали, что повышение обводненности почв приводит к увеличению содержания всех радионуклидов в жидкой фазе. При крайних значениях коэффициентов обводненности показатели содержания растворенных форм цезия различаются в 150–200 раз, стронция – в 3–9 [5].

В ряде наблюдений показано, что с увеличением влажности почвы увеличивается доля обменного  $^{137}\text{Cs}$ , поэтому возрастают коэффициенты перехода и содержание этого радионуклида в растениях. Установлено, что переход радиоцезия в многолетние травы на гидроморфных дерново-глеевых и дерново-подзолисто-глеевых почвах в 10–27 раз выше, чем на автоморфных и временно избыточно-увлажняемых разновидностях этих почв [6].

В кратковременном эксперименте S. Ehlken и G. Kirchner [7] показано, что поступление радионуклидов к корням происходит преимущественно с массами воды, а уменьшение содержания воды в почве приводит к снижению поступления цезия в растения.

Более сложные изменения в направленности и интенсивности миграции радионуклидов в системе почва–растения в естественных условиях связаны с водным режимом почвы. Так, по результатам трехлетнего полевого эксперимента [7], недостаток воды изменил морфологию и физиологию корней, а накопление  $^{90}\text{Sr}$  и  $^{137}\text{Cs}$  в пастбищной растительности не зависело от влажности почвы. В то же время исследование миграционной способности основных дозообразующих

радионуклидов чернобыльских эмиссий, проведенное белорусскими радиоэкологами в природно-растительном комплексе зоны отчуждения в условиях пойменного луга с доминированием в травостое злака-оксилomezогигрофита вейника незамечаемого (*Calamagrostis neglecta* Ehrh.), показало устойчивую тенденцию к повышению биологической подвижности радионуклидов цезия и стронция на самых увлажненных участках луга, затопляемых в весенний период [8]. При двукратном повышении уровня влажности в аккумулятивном горизонте почвы коэффициенты перехода  $^{90}\text{Sr}$  в побеги возрастали почти в 2 раза,  $^{137}\text{Cs}$  – в 6,5 раза.

Результаты специальных вегетационных опытов с искусственным поддержанием влажности почвы на уровне 80, 50 и 25 % от полной влагоемкости (ПВ) показали, что значения коэффициентов накопления определяются как химическими свойствами радиоактивных элементов, так и биологическими особенностями растений и очень незначительно варьируются по каждому нуклиду в зависимости от влажности почв [9]. В серии параллельных лабораторных опытов с системой почва–раствор было показано, что при относительно низкой обводненности, соответствующей показателям влажности при вегетационных опытах, концентрация  $^{137}\text{Cs}$  в жидкой фазе существенно не меняется, что может объяснять слабую вариабельность коэффициентов накопления цезия растениями.

Цель настоящей работы – анализ влияния режима увлажнения почвы на накопление  $^{137}\text{Cs}$  в надземной части злаковых растений для подтверждения научной гипотезы о том, что снижение содержания влаги в почве уменьшает биологическую доступность  $^{137}\text{Cs}$  за счет его перераспределения в пользу форм, связанных с минеральными компонентами почвы, и сопровождается ослаблением корневого поглощения и поступления радионуклида в надземные органы растений, а повышение уровня увлажнения почвы, наоборот, приводит к возрастанию биологической доступности цезия.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследований служили растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Рассвет, категория РС, репродукция 1, и почва, отобранная в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС. Субстраты для выращивания растений формировали из верхних слоев (0–10, 0–15 см) дерново-перегнойно-глеевой суглинистой почвы, отобранной в бывшем населенном пункте (б. н. п.) Борщевка (субстрат 1), и дерново-подзолистой супесчаной почвы, отобранной в окрестности б. н. п. Масаны (субстрат 2). Удельная активность субстрата 1 по  $^{137}\text{Cs}$  составляла 10,0 кБк/кг, субстрат 2 – 7,3 кБк/кг.

Анализ почв при выполнении вегетационных опытов показал, что субстраты 1 и 2 существенно различаются по водно-физическим и агрохимическим характеристикам (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Водно-физические и агрохимические свойства почвы при выполнении вегетационных опытов  
T a b l e 1. Water-physical and agrochemical characteristics of soil in the vegetative experiments

Показатель	Субстрат 1	Субстрат 2	Погрешность метода
pH (в KCl), ед.	6,7	4,4	0,2 ед.
Ca (обменный), мг/кг	2148–2461	251	7,5 %
Mg (обменный), мг/кг	133,8–228,6	34,2	7,5 %
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	1818–3245	142	15 %
Гумус, %	4,54–6,33	1,28	20 %
K <sub>2</sub> O (подвижный по Кирсанову), мг/кг	224–372	41	10–20 %
Общее к-во поглощенных оснований, мМ/100 г	57,2–69,2	2,2	10 %
Гидролитическая кислотность, мМ/100 г	0,89–1,03	2,62	12 %
Емкость поглощения, мМ/100 г	60,95–68,89	4,82	–
Степень насыщенности основаниями, %	98,3–98,7	45,6	–
Полная влагоемкость почвы, мл/кг	593,0	293,3	7,5 %
Удельная активность $^{137}\text{Cs}$ , кБк/кг	10,0	7,7	10 %

Определение агрохимических показателей в почвенных образцах проводили согласно стандартным методикам: pH – по ГОСТ 26483-85, гидролитической кислотности – по ГОСТ 26212-91, общего количества поглощенных оснований – по ГОСТ 27821-88, содержания гумуса – по ГОСТ 26213-91, обменного кальция и магния – по ГОСТ 26487-85, подвижного фосфора –

по ГОСТ 26207-91, калия водорастворимого – по ГОСТ 27753.6-88, калия подвижного – по методу Кирсанова согласно ГОСТ 26207-91, ГОСТ 27753.6-91. Для расчета и поддержания режима увлажнения почвы в экспериментах определяли ее полную влагоемкость [10].

В субстрате 1 показатели плодородия почвы превышали показатели в субстрате 2: по содержанию органического вещества – в 4 раза; подвижного фосфора, обменных форм калия, кальция и магния – в 7–9 раз; по емкости поглощения – в 12 раз; по степени насыщенности основаниями – в 2 раза. Реакция среды субстрата 1 близка к нейтральной ( $\text{pH}_{\text{КСЛ}}$  6,7), субстрата 2 – среднекислая ( $\text{pH}_{\text{КСЛ}}$  4,4).

Перед помещением субстратов в пластиковые контейнеры для выращивания растений почву тщательно перемешивали и увлажняли дистиллированной водой для достижения уровня влажности, равного 40 % от ПВ. После заполнения контейнеров объемом 1,1 л почвой в нее вносили, согласно схеме опытов, дополнительный объем дистиллированной воды для создания в субстратах уровней влажности 40, 70 и 85 % от ПВ. В ходе эксперимента каждые 2–3 сут весовым методом определяли потерю воды, обусловленную ее испарением с поверхности субстрата и в процессе транспирации растений, а затем восполняли потерянный объем дистиллированной водой. Опыты с увлажнением каждого субстрата проводили в трехкратной повторности.

Семена пшеницы проращивали при температуре 18 °С. Наклюнувшиеся семена в количестве 20 штук высевали по трафарету в контейнеры на глубину 1 см.

Экспериментальные исследования проводили в фитокамере с регулируемым климатом. Растения выращивали при температуре воздуха 18 °С и относительной влажности воздуха 50–60 %. Продолжительность светового дня составляла 16 ч, включая 30 мин на постепенное увеличение и ослабление светового потока. Поток фотосинтетически активной радиации на максимуме составлял  $100 \text{ мМ} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$ .

На 41-е сутки вегетации растения срезали и взвешивали. Затем надземную фитомассу высушивали до воздушно-сухого состояния, повторно взвешивали и измельчали в блендере до порошкообразного состояния. Навеску образца почвы после завершения эксперимента высушивали до воздушно-сухого состояния, просеивали через сито (размер ячейки 2 мм) и помещали в счетную мишень для гамма-спектрометрических измерений с геометрией «дента» (0,1 л).

Удельную активность образцов растений и почвы по  $^{137}\text{Cs}$  измеряли в соответствии с принятыми методическими рекомендациями, используя гамма-спектрометрический комплекс производства CANBERRA Packard (США) с коаксиальным полупроводниковым детектором GX2018. Спектрометрическую информацию обрабатывали с помощью пакета программ Genie 2000. Относительная погрешность при измерении удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в пробах составляла от 5 до 10 % в зависимости от активности образца. Минимально детектируемая активность  $^{137}\text{Cs}$  за время измерения 1 ч – 3 Бк в используемой счетной мишени объемом 0,1 л. Для определения поступления  $^{137}\text{Cs}$  в растения рассчитывали коэффициент накопления радионуклида – отношение удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в надземных органах растения (образцы в абсолютно сухом состоянии) к его удельной активности в почве (образцы в воздушно-сухом состоянии).

Для определения содержания в почве биологически доступного  $^{137}\text{Cs}$  (растворенная и обменная формы) радионуклид извлекали из навески почвы массой 10 г (в пересчете на абсолютно сухой вес), используя 1 М раствор ацетата аммония. Активность  $^{137}\text{Cs}$  в вытяжке определяли гамма-спектрометрическим методом, применяя счетную мишень геометрии Маринелли.

Для обработки полученных результатов использовали приложение StatSoft Statistica 6.0. Основными статистическими характеристиками служили: среднее арифметическое, среднее квадратичное отклонение, ошибка средней величины. Достоверность различий между средними величинами определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости 0,05.

**Результаты исследования.** В ходе изучения особенностей влияния водного режима почвы на миграционную способность радионуклидов  $^{137}\text{Cs}$  в системе почва–надземная фитомасса опытных растений на контрастных по агрохимическим характеристикам субстратах при содержании воды 40–85 % от ПВ было установлено, что уровни плодородия и содержания биогенных элементов минерального питания в почве оказали более существенное, чем водный режим, воздействие на биологическую продуктивность растений и накопление в них радионуклидов цезия.

Показатели продуктивности и развития растений на оптимальном агрофоне субстрата 1 в 2 раза превышали показатели растений на субстрате 2, характеризующемся низким уровнем плодородия и кислой ( $pH_{KCl}$  4,4) реакцией среды (табл. 2, рис. 1).

Таблица 2. Биологическая продуктивность побегов яровой пшеницы, абс. сух. вес

Table 2. Biological productivity of the shoots of spring wheat, absolutely dry weight

Влажность субстрата, % от полной влагоемкости	Субстрат 1			Субстрат 2		
	Фитомасса, г/контейнер	Прибавка, %	Абс. сух. вещество, %	Фитомасса, г/контейнер	Прибавка, %	Абс. сух. вещество, %
40	2,35 ± 0,10	-23,0	15,1 ± 0,7	1,30 ± 0,01	-7	20,7 ± 2,4
70	3,05 ± 0,30	-	16,8 ± 1,6	1,40 ± 0,11	-	22,0 ± 2,3
85	3,25 ± 0,21	+6,6	17,0 ± 3,7	1,43 ± 0,14	+2	22,3 ± 1,9

Принимая для обоих субстратов влажность 70 % от ПВ в заданном диапазоне уровней увлажнения за условный оптимум, следует отметить, что понижение влажности до 40 % от ПВ достоверно отразилось на продуктивности надземных органов пшеницы только на субстрате 1, где биологическая продуктивность растений снизилась на 23 % относительно показателей варианта с условно оптимальным увлажнением. Повышение влажности до 85 % от ПВ на субстрате 1, так же как и изменение влажности в диапазоне 40–85 % от ПВ на субстрате 2, существенно не повлияло на развитие и фитомассу растений.

На субстрате 1 содержание сухого вещества в надземных органах растений пшеницы в варианте 40 % от ПВ оказалось минимальным, в вариантах с 70 и 85 % от ПВ наблюдалось незначительное его увеличение. На субстрате 2 различия в содержании сухого вещества в надземных органах между вариантами с заданными уровнями увлажнения практически отсутствовали. В данных условиях дефицит макроэлементов явился основным лимитирующим фактором, поэтому недостаточное или избыточное количество воды практически не отразилось на параметрах надземной фитомассы.

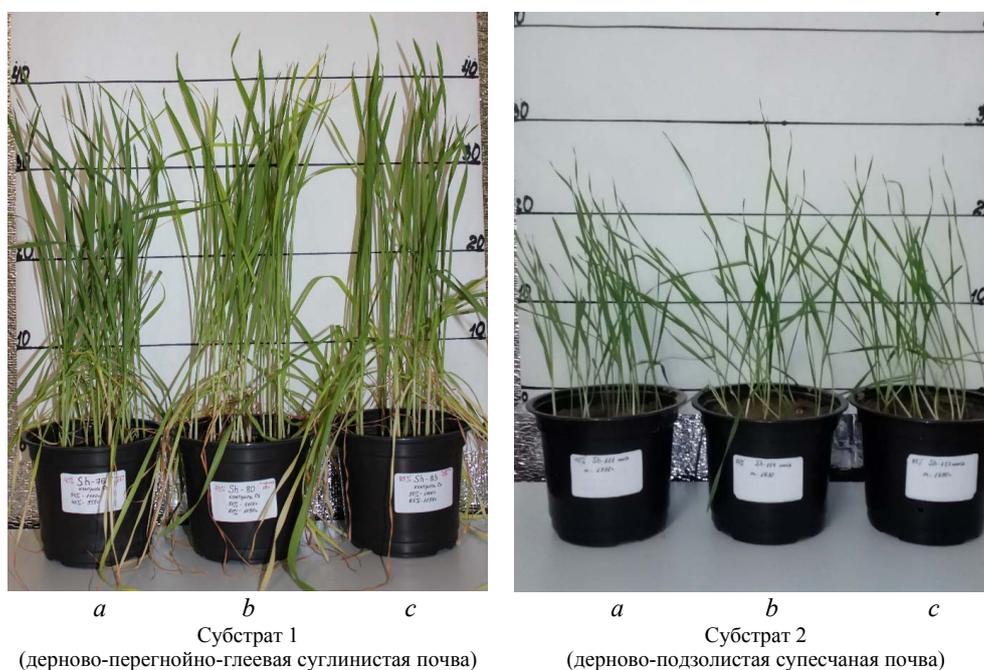


Рис. 1. Растения яровой пшеницы на 41-е сутки культивирования в условиях оптимального (субстрат 1) и низкого (субстрат 2) агрофонов при различных уровнях влагообеспеченности почвы: а – 40 %, б – 70 %, с – 85 % от полной влагоемкости

Fig. 1. The 41-day old winter wheat plants cultivated in optimal (substrate 1) and low (substrate 2) fertility of soil with water content: a – 40 %, b – 70 %, c – 85 % of full moisture capacity

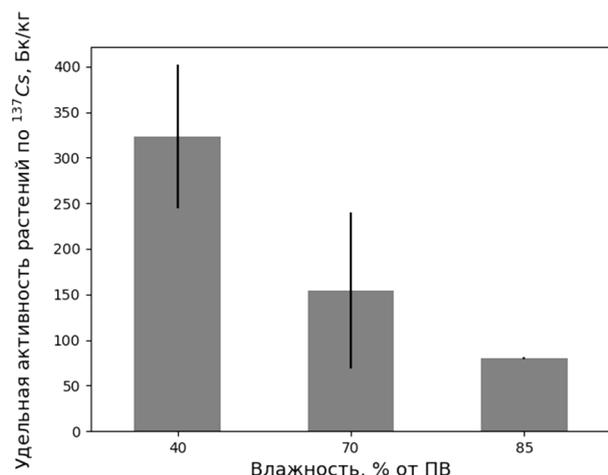


Рис. 2. Накопление <sup>137</sup>Cs в надземных органах яровой пшеницы при оптимальном уровне минерального питания

Fig. 2. Accumulation of <sup>137</sup>Cs in shoots of winter wheat depending on the water regime under the optimal nutrient supply

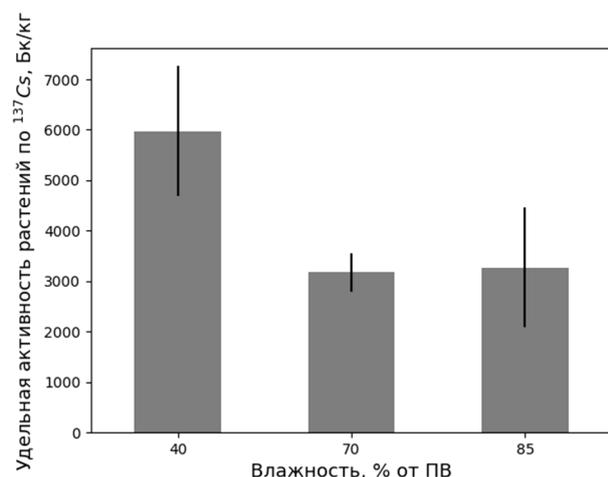


Рис. 3. Накопление <sup>137</sup>Cs в надземных органах яровой пшеницы на кислом субстрате с низким содержанием минеральных элементов питания

Fig. 3. Accumulation of <sup>137</sup>Cs in shoots of winter wheat depending on the water regime under the conditions of low pH and low content of nutrients in the substrate

при увлажнении 70 и 85 % от ПВ отсутствуют, в отличие от растений, находившихся в более благоприятных условиях минерального питания.

Зависимость коэффициентов накопления <sup>137</sup>Cs в побегах пшеницы от влажности субстрата сходна с таковой для удельной активности радионуклида (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Коэффициенты накопления <sup>137</sup>Cs в побегах яровой пшеницы на 41-е сутки вегетации на субстратах с разными уровнями минерального питания и влагообеспеченности  
Table 3. Coefficients of <sup>137</sup>Cs accumulation in shoots of 41-diurnal winter wheat plants under the conditions of various nutrients and water content in the substrate

Влажность почвы, % от ПВ	Субстрат 1	Субстрат 2
40	0,033	0,785
70	0,015	0,421
85	0,008	0,428

Результаты эксперимента свидетельствуют, что при оптимальном уровне минерального питания содержание <sup>137</sup>Cs в надземных органах пшеницы в значительной степени зависит от уровня увлажнения почвенного субстрата (рис. 2). Так, при выращивании растений на субстрате 1 в варианте с содержанием воды 40 % от ПВ удельная активность надземной фитомассы составляет  $323,3 \pm 78,4$  Бк/кг, что в 2 раза выше, чем у растений, выращенных при 70 %-ной влажности субстрата. Минимальная удельная активность наблюдалась в надземных органах пшеницы при содержании воды 85 % от ПВ –  $80,7 \pm 3,5$  Бк/кг, что в 4 раза ниже, чем у растений, развивавшихся на субстрате с 40 %-ным содержанием влаги. Таким образом, на субстрате с высоким уровнем элементов минерального питания и близкой к нейтральной реакцией среды ( $pH_{KCl}$  6,7) при всех вариантах увлажнения почвы прослеживается обратная зависимость между накоплением <sup>137</sup>Cs в надземных органах пшеницы и содержанием влаги в субстрате.

Удельная активность <sup>137</sup>Cs в надземных органах пшеницы яровой, выросшей на субстрате 2 с низким содержанием элементов питания и кислой реакцией среды, более чем на порядок выше, чем у растений, выросших в более благоприятных условиях, при сопоставимом содержании радиоизотопа в субстрате (рис. 3).

На низком агрофоне содержание <sup>137</sup>Cs в побегах яровой пшеницы при влажности субстрата 40 % от ПВ достигает  $5977,3 \pm 1278,8$  Бк/кг. Это в 2 раза выше, чем у растений, развивавшихся на субстрате с влажностью 70 и 85 %, –  $3181,5 \pm 381,4$  и  $3272,8 \pm 1189,3$  Бк/кг соответственно. В условиях низкой pH и недостаточного содержания минеральных элементов питания в почве различия между вариантами

При оптимальном уровне минерального питания содержание радиоиотопа в растениях с увеличением влажности субстрата от 40 до 85 % последовательно снижается. На бедном субстрате с низким pH снижение коэффициентов накопления  $^{137}\text{Cs}$  в растениях останавливается при уровне влажности до 70 % от ПВ. При идентичных режимах увлажнения почвы величины коэффициентов накопления у растений на субстратах с оптимальным (субстрат 1) и низким (субстрат 2) агрофоном различаются в 23–53 раза; максимальные различия отмечены при 85 %-ном содержании влаги в субстрате.

Проведенное после завершения эксперимента определение содержания радиоактивного изотопа цезия в почвенной среде в биологически доступных формах (растворенной и обменной) в зависимости от уровня влагообеспеченности субстрата не подтвердило предположение об увеличении доли биодоступных форм  $^{137}\text{Cs}$  в почве при повышении ее влажности. Доля радиоиотопа в доступной для корневого поглощения форме при отсутствии достоверных различий между вариантами увлажнения в опыте не превышала 1 % от содержания радиоцезия в субстрате (рис. 4).

**Обсуждение.** Механизм усвоения радиоиотопов щелочных и щелочноземельных металлов корнями растений во многом подобен усвоению калия и кальция соответственно. В почвенной среде основными лимитирующими факторами выступают ионно-обменные реакции и диффузия. Основное количество радиоиотопов извлекается корнями из почвенного раствора, а также из почвенно-поглощающего комплекса, с частицами которого тесно контактируют корневые волоски, или зона поглощения корня.

Результаты эксперимента свидетельствуют о повышении уровней накопления  $^{137}\text{Cs}$  надземными органами пшеницы при недостаточном уровне влагообеспеченности. Данная закономерность с высокой степенью статистической значимости повторяется на почвенных субстратах с различным уровнем содержания минеральных элементов питания. Долговременное повышение влажности сверх оптимального уровня приводит к снижению содержания  $^{137}\text{Cs}$  в надземных органах пшеницы при оптимальном и близком к нему уровнях минерального питания. На бедном агрофоне повышенная влажность почвы существенно не отражается на уровне накопления радиоиотопа. При этом режим увлажнения не оказывает существенного влияния на содержание  $^{137}\text{Cs}$  в растворенной и обменной формах. По-видимому, закономерности, выявленные при выращивании растений в вегетационных сосудах, ограничивающих доступный объем для корневых систем, определяются в первую очередь физиологической реакцией растительного организма и прежде всего особенностями развития и метаболизма корневых систем. Активация или ингибирование системы поглощения ионов из внешней среды, их движения по симпласту и выброса в ксилему для дальнейшего транспорта в надземные органы тесно связаны с дыхательной активностью корней [11]. Известно, что энергетические затраты дыхания на поглощение ионов сравнительно невысоки по сравнению с затратами на рост и поддержание корней [12]. У злаковых растений, относительно устойчивых к понижению содержания влаги в субстрате, корневые системы, как первичные сенсоры водного стресса, реагируют на него усилением роста и активизацией дыхания [13], что в ограниченном объеме субстрата можно рассматривать как адаптивную реакцию, направленную на увеличение поглощения воды и катионов макро- и микроэлементов, чем в определенной степени можно объяснить разную форму связи между накоплением радиоцезия побегами злаковых растений и водным режимом субстрата в условиях полевых опытов и вегетационного эксперимента.

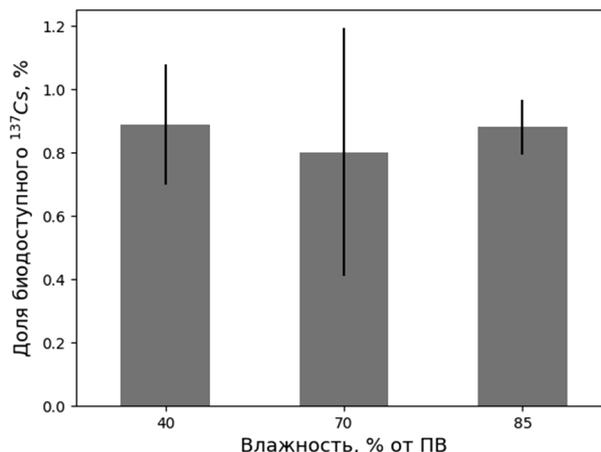


Рис. 4. Доля  $^{137}\text{Cs}$  в растворенной и обменной формах при различных режимах увлажнения субстрата 1

Fig. 4. Percentage of  $^{137}\text{Cs}$  in soluble and exchange forms in substrate 1 with different water regime

Основываясь на полученных результатах, предлагается рассмотреть механизм, объясняющий увеличение поступления  $^{137}\text{Cs}$  в надземные органы пшеницы при недостаточной влагообеспеченности, с позиции мембранной биофизики. При уменьшении содержания воды в почве ниже физиологического оптимума резко усиливается работа систем активного транспорта катионов в корнях растений [14], что увеличивает содержание в них  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и др. Показано, что адекватное снабжение растений  $\text{K}^+$  важно для их адаптации к засухе [15]. Более того, на фоне недостаточного водоснабжения растения испытывают повышенную потребность в калии [16]. В то же время почвенная засуха сильно ослабляет способность растений к корневому поглощению данного элемента [17], что обусловлено как мобильностью  $\text{K}^+$  в почве, так и снижением уровня транскрипции ионных переносчиков в корнях и нарушениями в их работе [18]. Основным механизмом корневого поглощения  $\text{K}^+$  при его умеренном содержании в почвенном растворе являются калиевые каналы внутреннего выпрямления. Через них формируется однонаправленный поток калия за счет электрохимического градиента [19]. При развитии стресса у растений, в том числе вызываемого недостатком воды в почве, наблюдается деполяризация мембраны под действием абсцизовой кислоты [20]. При этом роль высокоафинных переносчиков калия возрастает.

В ряде работ показано, что засуха приводит к активации высокоафинных переносчиков  $\text{K}^+$  на уровне транскрипции, что позволяет растениям в определенной степени адаптироваться к неблагоприятным условиям. Среди данных переносчиков –  $\text{KUP6}$ , переносчик с высокой аффинностью к  $\text{K}^+$  из семейства  $\text{KUP/НАК/КТ}$  [21]. Он экспрессируется в эпидермисе корня и, как предполагается, играет значительную роль в поглощении калия корневой системой в условиях его нехватки в почве. Активность данного переносчика повышается в ответ на стимуляцию абсцизовой кислотой. Переносчики  $\text{K}^+$   $\text{KUP/НАК/КТ}$  типа имеют высокую аффинность не только к  $\text{K}^+$ , но и к ионам  $\text{Cs}^+$ , в отличие от калиевых каналов внутреннего выпрямления [22, 23].

Следовательно, есть основание предположить, что увеличение активности высокоафинных переносчиков  $\text{K}^+$  может являться одним из действенных факторов повышенного накопления  $^{137}\text{Cs}$  растениями в условиях нехватки почвенной влаги.

**Заключение.** Установлена зависимость параметров накопления  $^{137}\text{Cs}$  в надземных органах яровой пшеницы от режима увлажнения почвы начиная с ранних этапов развития растений. По результатам вегетационного эксперимента показано, что увеличение содержания воды в почве от 40 до 85 % от полной влагоемкости снижает содержание  $^{137}\text{Cs}$  в растениях. Характер зависимости между влажностью почвы и накоплением  $^{137}\text{Cs}$  надземными органами растений определяется агрохимическими особенностями почвы.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Природопользование и экология» на 2016–2020 гг.

**Acknowledgements.** The investigations were supported by State program of scientific research “Environmental management and ecology”, 2016–2020.

### Список использованных источников

1. Логинов, В. Ф. Глобальные и региональные изменения климата: причины и следствия / В. Ф. Логинов. – Минск : ТетраСистемс, 2007. – 496 с.
2. Will global warming affect soil-to-plant transfer of radionuclides? / M. Dowdall [et al.] // J. Environmental Radioactivity. – 2008. – Vol. 99, N 11. – P. 1736–1745. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2008.06.012>
3. Михайловская, Л. Н. Влияние режима увлажнения на подвижность радионуклидов в почвах аварийной зоны Чернобыльской АЭС / Л. Н. Михайловская, Е. Н. Караваева, И. В. Молчанова // Экология. – 1992. – № 2. – С. 76–79.
4. Перельман, А. И. Геохимия ландшафта / А. И. Перельман. – М. : Географгиз, 1961. – 496 с.
5. Молчанова, И. В. Эколого-геохимические аспекты миграции радионуклидов в почвенно-растительном покрове / И. В. Молчанова, Е. Н. Караваева. – Екатеринбург : Рос. акад. наук. Урал. отд-ние, 2001. – 160 с.
6. Анненков, Б. Н. Основы сельскохозяйственной радиологии / Б. Н. Анненков, Е. В. Юдинцева. – М. : Агропромиздат, 1991. – 286 с.
7. Ehlken, S. Environmental processes affecting plant root uptake of radioactive trace elements and variability of transfer factor data: a review / S. Ehlken, G. Kirchner // J. Environmental Radioactivity. – 2002. – Vol. 58, N 2–3. – P. 97–112. [https://doi.org/10.1016/s0265-931x\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/s0265-931x(01)00060-1)
8. Воздействие эпибрасинолида на накопление  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{241}\text{Am}$  чернобыльских эмиссий травостоем пойменного злакового луга при разных уровнях влажности и трофности почвы / Т. А. Будкевич [др.] // Ботаника (исследования): сб. науч. тр. / Ин-т эксперим. ботаники НАН Беларуси. – Минск : Право и экономика, 2009. – Вып. 37. – С. 341–356.

9. Куликов, Н. В. Влияние режима почвенного увлажнения на переход стронция-90, цезия-137 и церия-144 из почвы в раствор / Н. В. Куликов, И. В. Молчанова, Е. Н. Караваева // Экология. – 1973. – № 4. – С. 57–62.
10. Козлова, А. А. Учебная практика по физике почв : учеб.-метод. пособие. – Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2009. – 81 с.
11. Головкин, Т. К. Дыхание растений (физиологические аспекты) / Т. К. Головкин. – СПб. : Наука, 1999. – 204 с.
12. McCree, K. J. Whole-plant carbon balance during osmotic adjustment to drought and salinity stress / K. J. McCree // Austral. J. Plant. Physiol. – 1986. – Vol. 13, N 1. – P. 33–44. <https://www.publish.csiro.au/fp/PP9860033>
13. Veen, B. W. Relation between root respiration and root activity / B. W. Veen // Plant Soil. – 1981. – Vol 63, N 1. – P. 73–78. <https://www.publish.csiro.au/fp/PP9860033>
14. Кузнецов, В. В. Физиология растений / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 2006. – 742 с.
15. Cakmak, I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants / I. Cakmak // J. Plant Nutr. Soil Sci. – 2005. – Vol. 168, N 4. – P. 521–530. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420485>
16. Cakmak, T. Role of mineral nutrients in photosynthesis and yield formation / T. Cakmak, C. Engels // Mineral nutrition of crops: mechanisms and implications / ed. Z. Rengel. – New York, 1999. – P. 141–168.
17. Hu, Y. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants / Y. Hu, U. Schmidhalter // J. Plant Nutr. Soil Sci. – 2005. – Vol. 168, N 4. – P. 541–549. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420516>
18. Hu, L. Effects of cytokinin and potassium on stomatal and photosynthetic recovery of kentucky bluegrass from drought stress / L. Hu, Z. Wang, B. Huang // Crop Sci. – 2013. – Vol. 53, N 1. – P. 221–231. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.05.0284>
19. Gierth, M. Potassium transporters in plants-involvement in K<sup>+</sup> acquisition, redistribution and homeostasis / M. Gierth, P. Mäser // FEBS Letters. – 2007. – Vol. 581, N 12. – P. 2348–2356. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.035>
20. Molecular biology of K<sup>+</sup> transport across the plant cell membrane: what do we learn from comparison between plant species? / A.-A. Véry [et al.] // J. Plant Physiol. – 2014. – Vol. 171, N 9. – P. 748–769. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.01.011>
21. Osmotic stress responses and plant growth controlled by potassium transporters in arabidopsis / Y. Osakabe [et al.] // Plant Cell. – 2013. – Vol. 25, N 2. – P. 609–624. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.105700>
22. The high affinity K<sup>+</sup> transporter AtHAK5 plays a physiological role in plant at very low K<sup>+</sup> concentrations and provides a caesium uptake pathway in arabidopsis / Z. Qi [et al.] // J. Experim. Botany. – 2008. – Vol. 59, N 3. – P. 595–607. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm330>
23. Burger, A. Stable and radioactive cesium: A review about distribution in the environment, uptake and translocation in plants, plant reactions and plants' potential for bioremediation / A. Burger, I. Lichtscheidl // Sci. Total Envir. – 2018. – Vol. 618. – P. 1459–1485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.298>

## References

1. Loginov V. F. *Global and regional climate changes: cause and effect*. Minsk, TetraSistems Publ., 2007. 496 p. (in Russian).
2. Dowdall M., Standring W., Shaw G., Strand P. Will global warming affect soil-to-plant transfer of radionuclides? *Journal of Environmental Radioactivity*, 2008, vol. 99, no. 11, pp. 1736–1745. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2008.06.012>
3. Mikhailovskaya L. N., Karavaeva E. N., Molchanova I. V. Influence of water regime of soils in impact-zone of Chernobyl NPP. *Ekologiya = Ecology*, no. 2, pp. 76–79 (in Russian).
4. Perel'man A. I. *Landscapes geochemistry*. Moscow, Geografiz Publ., 1961. 496 p. (in Russian).
5. Molchanova I. V., Karavaeva E. N. *Ecological and geochemical sides of radionuclides migration in soil-plant cover*. Ekaterinburg, Russian Academy of Sciences, Ural Branch, 2001. 160 p. (in Russian).
6. Annenkov B. N., Yuditseva E. V. *Basics of agricultural radiology*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1991. 286 p. (in Russian).
7. Ehlken S., Kirchner G. Environmental processes affecting plant root uptake of radioactive trace elements and variability of transfer factor data: a review. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2002, vol. 58, no. 2–3, pp. 97–112. [https://doi.org/10.1016/s0265-931x\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/s0265-931x(01)00060-1)
8. Budkevich T. A., Zabolotnyi A. I., Kas'yanchik S. A., Kudryashov V. P. The effect of epibrassinolide to the biological mobility of <sup>137</sup>Cs, <sup>90</sup>Sr, <sup>241</sup>Am under different soil moisture and trofic levels on the cereal water meadow. *Botanika (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov* [Botany (research): collection of scientific papers], 2009, vol. 37, pp. 341–356 (in Russian).
9. Kulikov N. V., Molchanova I. V., Karaeva E. N. Influence of soil water regime on the transfer of strontium-90, cesium-137 and cerium-144 from soil into solution. *Ekologiya = Ecology*, 1973, no. 4, pp. 57–62 (in Russian).
10. Kozlova A. A. *Study practice on soil physics*. Irkutsk, Irkutsk State University, 2001. 81 p. (in Russian).
11. Golovko T. K. *Respiration of plants. Physiological aspects*. Sankt-Peterburg, Nauka Publ., 1999. 204 p. (in Russian).
12. McCree K. J. Whole-plant carbon balance during osmotic adjustment to drought and salinity stress. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1986, vol. 13, no. 1, pp. 33–44. <https://www.publish.csiro.au/fp/PP9860033>
13. Veen B. W. Relation between root respiration and root activity. *Plant and Soil*, 1981, vol. 63, no. 1, pp. 73–78. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-8314-4\\_53](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-8314-4_53)
14. Kuznetsov V. V., Dmitrieva G. A. *Plants physiology*. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 2006. 742 p. (in Russian).

15. Cakmak I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2005, vol. 68, no. 4, pp. 521–530. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420485>
16. Cakmak T., Engels C. Role of mineral nutrients in photosynthesis and yield formation. *Mineral nutrition of crops: mechanisms and implications*. New York, 1999, pp. 141–168.
17. Hu Y., Schmidhalter U. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2005, vol. 168, no. 4, pp. 541–549. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420516>
18. Hu L., Wang Z., Huang B. Effects of cytokinin and potassium on stomatal and photosynthetic recovery of kentucky bluegrass from drought stress. *Crop Science*, 2013, vol. 53, no. 1, pp. 221–231. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.05.0284>
19. Gierth M., Mäser P. Potassium transporters in plants-involvement in K<sup>+</sup> acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Letters*, 2007, vol. 581, no. 12, pp. 2348–2356. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.035>
20. Véry A. A., Nieves-Cordones M., Daly M., Khan I., Fizames C., Sentenac H. Molecular biology of K<sup>+</sup> transport across the plant cell membrane: What do we learn from comparison between plant species? *Journal of Plant Physiology*, 2014, vol. 171, no. 9, pp. 748–769. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.01.011>
21. Osakabe Y., Arinaga N., Umezawa T., Katsura S., Nagamachi K., Tanaka H. [et al.]. Osmotic stress responses and plant growth controlled by potassium transporters in arabidopsis. *Plant Cell*, 2013, vol. 25, no. 2, pp. 609–624. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.105700>
22. Qi Z., Hampton C. R., Shin R., Barkla B. J., White P. J., Schachtman D. P. The high affinity K<sup>+</sup> transporter AtHAK5 plays a physiological role in planta at very low K<sup>+</sup> concentrations and provides a caesium uptake pathway in arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 2008, vol. 59, no. 3, pp. 595–607. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm330>
23. Burger A., Lichtscheidl I. Stable and radioactive cesium: A review about distribution in the environment, uptake and translocation in plants, plant reactions and plants' potential for bioremediation. *Science of the Total Environment*, 2018, vol. 618, pp. 1459–1485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.298>

### Информация об авторах

*Никитин Александр Николаевич* – канд. с.-х. наук, заведующий лабораторией. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: nikitinale@gmail.com

*Шуранкова Ольга Александровна* – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: shurankova@list.ru

*Чешик Игорь Анатольевич* – канд. мед. наук, доцент, директор. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: igor.cheshik@gmail.com

*Леферд Галина Аркадьевна* – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: leferd@mail.ru

*Мищенко Егор Викторович* – мл. науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: 60ssr@mail.ru

*Жуковская Евгения Викторовна* – мл. науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: evgenia@yandex.by

*Сухарева Диана Витальевна* – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). E-mail: dianasuhareva@yandex.ru

### Information about the authors

*Aleksander N. Nikitin* – Ph. D. (Agric.), Head of the Laboratory. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: nikitinale@gmail.com

*Olga A. Shurankova* – Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: shurankova@list.ru

*Ihar A. Cheshyk* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Director. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: igor.cheshik@gmail.com

*Halina A. Leferd* – Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: leferd@mail.ru

*Yahor V. Mishchanka* – Junior researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: 60ssr@mail.ru

*Evgenia V. Zhukovskaya* – Junior researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: evgenia@yandex.by

*Diana V. Suhareva* – Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). E-mail: dianasuhareva@yandex.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 579.66:577.15+577.113.3

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-239-244>

Поступила в редакцию 12.11.2019

Received 12.11.2019

**А. Б. Булатовский, А. И. Зинченко**

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

## **СОЗДАНИЕ ШТАММА – ПРОДУЦЕНТА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ, СЛИТОЙ С ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ АННЕКСИНОМ А5**

**Аннотация.** Бактериальная пуриинуклеозидфосфорилаза (ПНФаза), в отличие от ПНФазы млекопитающих, способна подвергать фосфоролитическому расщеплению аденозин и его производные с образованием свободных азотистых оснований. Это позволяет использовать ПНФазу бактерий (при условии решения проблемы доставки этого фермента или его гена в клетки-мишени) в качестве пролекарственной терапии рака. Кроме того, ПНФаза в ложе опухоли может разрушать внеклеточный аденозин, который, как известно, защищает раковые клетки от противоопухолевого иммунитета.

В результате проведенного исследования сконструирован новый штамм *Escherichia coli*, продуцирующий химерный белок, молекула которого состоит из гомологичной ПНФазы, слитой с человеческим аннексином А5 – белком, проявляющим сродство к раковым клеткам. Продуцирующая способность штамма – продуцента химерного белка «Аннексин-ПНФаза» в отношении ПНФазы, рассчитанная по результатам реакции фосфоролитической инозина, составила 10 200 ед/мл культуральной жидкости. Полученный штамм предназначен для создания технологии получения новых противоопухолевых препаратов.

**Ключевые слова:** рекомбинантный штамм, химерный белок, человеческий аннексин А5, пуриинуклеозидфосфорилаза, *Escherichia coli*

**Для цитирования:** Булатовский, А. Б. Создание штамма – продуцента бактериальной пуриинуклеозидфосфорилазы, слитой с человеческим аннексином А5 / А. Б. Булатовский, А. И. Зинченко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 239–244. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-239-244>

**Aleksei B. Bulatovski, Anatoliy I. Zinchenko**

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

## **CREATION OF STRAIN – PRODUCER OF BACTERIAL PURINE NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE FUSED WITH HUMAN ANNEXIN A5**

**Abstract.** It is known that bacterial purine nucleoside phosphorylase (PNPase), unlike mammalian PNPase, is capable of phosphorolytic cleavage of adenosine and its derivatives to form free nitrogen bases. This makes it possible to use bacterial PNPase (provided the problem of delivering this enzyme or its gene to target cells is solved) as a prodrug therapy for cancer. In addition, PNPase in a tumor bed can destroy extracellular adenosine, which is known to protect cancer cells from antitumor immunity.

As a result of the study, a new strain of *Escherichia coli* was constructed, producing a chimeric protein whose molecule consists of a homologous PNPase fused to human annexin A5, a protein showing affinity for cancer cells.

The production capacity of the producer strain of the chimeric protein “Annexin-PNPase” with respect to PNPase calculated from the results of the inosine phosphorolysis reaction, was 10,200 units/ml of culture liquid. The obtained strain is intended for creation of a technology for obtaining new antitumor preparations.

**Keywords:** recombinant strain, fusion protein, human annexin A5, purine nucleoside phosphorylase, *Escherichia coli*

**For citation:** Bulatovski A. B., Zinchenko A. I. Creation of strain – producer of bacterial purine nucleoside phosphorylase fused with human annexin A5. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 239–244 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-239-244>

**Введение.** Известно, что пуриинуклеозидфосфорилаза (ПНФаза) бактерий, в отличие от аналогичного фермента человека и животных, способна катализировать реакцию фосфоролитического расщепления молекулы аденозина и его структурных аналогов на сахарофосфат и азотистое основание [1].

В научной литературе отмеченную особенность бактериальной ПНФазы предложено использовать в качестве элемента так называемой «суицидальной генотерапии» рака [2, 3]. Этот терапевтический подход предусматривает введение гена, кодирующего ПНФазу *Escherichia coli* (*E. coli*), в клетки опухоли с последующим превращением с помощью этого фермента, например слаботоксичного арабинофуранозил-2-фтораденина (пролекарство), в губительную для клеток субстанцию – 2-фтораденин [4].

Нами ранее [5] экспериментально обоснована возможность использования рекомбинантных ферментов для получения арабинофуранозил-2-фтораденина. Для создания отечественной пролекарственной ферментной технологии, аналогичной описанной выше, необходимо решить проблему доступности и доставки бактериальной ПНФазы в опухолевые клетки-мишени.

J. Kraiss с соавт. [3] предложили доставлять бактериальную ПНФазу в опухоли в форме ее химического конъюгата с аннексином А5 – человеческим белком, проявляющим сродство к фосфатидилсерину – липиду, выстилающему поверхность опухолевых клеток [6, 7]. Для реализации этого предложения авторами был создан относительно слабоактивный рекомбинантный штамм бактерий, продуцирующих ПНФазу *E. coli*, слитую с аннексином А5, и продемонстрирована успешная доставка фермента в клетки ряда злокачественных опухолей. Продуцирующая способность этого штамма в отношении химерного белка, измеренная по активности ПНФазы, составила 2,1 ед/мл культуральной жидкости. По нашему мнению, невысокая продуктивность этого штамма обусловлена недостаточно эффективной системой экспрессии генов, использованной авторами цитируемой статьи.

Цель настоящего исследования – создание нового высокоактивного штамма *Escherichia coli*, продуцирующего гомологичную ПНФазу, слитую с человеческим аннексином А5.

**Материалы и методы исследования.** Источником структурного гена *anxA5*, кодирующего аминокислотную последовательность человеческого аннексина-А5 (далее – аннексина), служила плаزمид рЕТ12-PAPI (Addgene, США). Ген ПНФазы *deoD* был выделен из геномной ДНК *E. coli* BL21(DE3) (Novagen, США). Геномную ДНК и плазмиду выделяли из клеток бактерий с помощью стандартного метода фенол-хлороформной экстракции с дополнительной очисткой при помощи цетавлона [8]. Для дальнейшего выделения генов использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и специально подобранные олигонуклеотидные праймеры (см. таблицу).

**Последовательности олигонуклеотидных праймеров**  
**Sequences of oligonucleotide primers**

Праймер	Назначение праймера
<b>deoD-F</b> (5'-GTGGTGGTCCACAACGCTACCCCA-ACATTAATG-3')	Прямой праймер для амплификации гена <i>deoD</i>
<b>deoD-R</b> (5'-GATCCAGAACCGAGCCCTCTTTATC-GCCCAGCAG-3')	Обратный праймер для амплификации гена <i>deoD</i> , содержит линкерный участок
<b>anxA5-F</b> (5'-GGCTCCGGTTCTGATCCACAGGT-TCTCAGAGGCA-3')	Прямой праймер для амплификации гена <i>anxA5</i> , содержит линкерный участок
<b>anxA5-R</b> (5'-GGTGATGGTGATGCTCGTCATCTT-TCCACAGAGCAG-3')	Обратный праймер для амплификации гена <i>anxA5</i>

Примечание. Подчеркиванием отмечены линкерные участки.

Полученные гены *anxA5* и *deoD* и плазмид рЕТ42a(+) (Novagen, США) были собраны в одну генетическую конструкцию (обозначенную как рЕТ42a-PNP-AnxA5) методом продолжительной перекрывающейся ПЦР [9].

Для предотвращения стерических препятствий, затрудняющих функционирование слитых белков, между их генами в плазмиду был вставлен участок ДНК (размером 18 пар оснований), кодирующий олигопептид, состоящий из поочередно повторяющихся аминокислотных остатков глицина и серина.

Путем последующей трансформации этой плазмидой клеток *E. coli* Rosetta 2 (фирма Merck, Германия) был получен рекомбинантный штамм бактерий *E. coli* AD19 – продуцент химерного белка «Аннексин-ПНФаза».

Клетки-трансформанты культивировали в жидкой питательной среде Luria-Bertani при 37 °С до оптической плотности 0,5 при  $\lambda = 600$  нм, после чего индуцировали синтез химерного белка путем внесения в среду изопропил- $\beta$ -D-1-тиогалактопиранозида (ИПТГ) в конечной концентрации 0,2 мМ.

Активность ПНФазы химерного белка определяли по скорости фосфорилиза инозина [3], процентное содержание целевого белка в клетках – с использованием программы ImageLab (BioRad, США). За единицу активности ПНФазы принимали такое ее количество, которое обеспечивало фосфорилиз нуклеозида при 37 °С со скоростью 1 мкмоль/мин.

Белковый состав клеточного лизата, а также очищенного химерного белка определяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, содержащем додецилсульфат натрия (ДСН), молекулярные массы белков, а также уровень экспрессии клонированных генов – с помощью программы ImageLab (BioRad, США). Содержание белка в образцах определяли методом М. Bradford [10]. Приведенные в работе экспериментальные данные представляют собой доверительный интервал среднего арифметического для 95 %-ного уровня вероятности.

**Результаты и их обсуждение.** Судя по результатам электрофоретического анализа клеточного лизата штамма *E. coli* AD19 в ДСН-полиакриламидном геле (рис. 1), синтезируемый клетками химерный белок составляет более 67 % от содержащегося в клетках водорастворимого белка.

Молекулярная масса этого белка составляет порядка 63,9 кДа, что соответствует теоретически рассчитанной для химерной конструкции, состоящей из аннексина (35,8 кДа), ПНФазы (26,5 кДа) и олигопептидного линкера (1,6 кДа).

Оптимизация параметров культивирования штамма-продуцента позволила установить, что максимальный уровень накопления химерного белка «Аннексин-ПНФаза» достигается спустя 4,5 ч после начала индукции его биосинтеза с помощью 0,2 мМ ИПТГ.

На следующем этапе работы осуществляли наработку клеточной биомассы и выделение из нее химерного белка. По окончании культивирования клетки осаждали путем центрифугирования при 15 000 g в течение 5 мин, дважды отмывали от питательной среды с помощью 0,15 М раствора NaCl, разрушали ультразвуком и выделяли целевой белок с помощью металло-аффинной хроматографии на колонке с Ni-NTA фирмы GE Healthcare (США). По результатам электрофореза чистота препарата в ДСН-полиакриламидном геле (рис. 1) составила около 98 %.

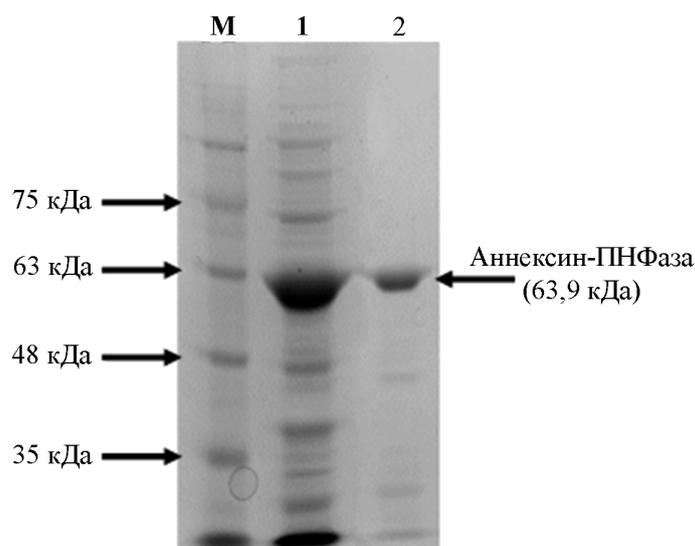


Рис. 1. Электрофореграмма в ДСН-полиакриламидном геле химерного белка до (1) и после (2) выделения из лизата клеток *E. coli* AD19. М – маркерные белки с известной молекулярной массой

Fig. 1. SDS-PAGE image of fusion protein before (1) and after (2) isolation from *E. coli* AD19 cell lysate. М – protein molecular weight markers



**Заклучение.** В результате выполненного исследования сконструирован новый рекомбинантный штамм *E. coli* AD19, продуцирующий ПНФазу, слитую с человеческим аннексином, с молекулярной массой 63,9 кДа (что соответствует теоретически рассчитанной). При этом продуцирующая способность штамма в отношении ПНФазы в составе химерного белка составляет 10 200 ед/мл культуральной жидкости, что значительно превышает продуктивность известного из литературы штамма-аналога. Продуцируемый этим штаммом химерный белок «Аннексин-ПНФаза» имеет перспективу применения в качестве элементов новейших (оригинальных) противоопухолевых препаратов.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках задания 3.32 Государственной программы научных исследований «Микробные биотехнологии», 2016–2020 гг.

**Acknowledgements.** The work was supported by the grant 3.32 from the Belarus State Research Program “Microbial Biotechnologies”, 2016–2020.

### Список использованных источников

1. Expression, purification, and characterization of recombinant purine nucleoside phosphorylase from *Escherichia coli* / J. Lee [et al.] // *Protein Expr. Purif.* – 2001. – Vol. 22, N 2. – P. 180–188. <https://doi.org/10.1006/prep.2001.1437>
2. Portsmouth, D. Suicide genes for cancer therapy / D. Portsmouth, J. Hlavaty, M. Renner // *Mol. Aspects Med.* – 2007. – Vol. 28, N 1. – P. 4–41. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2006.12.001>
3. Kraiss, J. J. Purine nucleoside phosphorylase targeted by Annexin V to breast cancer vasculature for enzyme prodrug therapy / J. J. Kraiss, O. De Crescenzo, R. G. Harrison // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8, N 10. – P. e76403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076403>
4. *In vivo* gene therapy of cancer with *E. coli* purine nucleoside phosphorylase / W. B. Parker [et al.] // *Hum. Gene Ther.* – 1997. – Vol. 8, N 14. – P. 1637–1644. <https://doi.org/10.1089/hum.1997.8.14-1637>
5. Синтез флударабин-5'-монофосфата с использованием бактериальных рекомбинантных ферментов / А. И. Береснев [и др.] // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2017. – Т. 62, № 1. – С. 7–15.
6. In search of a novel target – phosphatidylserine exposed by non-apoptotic tumor cells and metastases of malignancies with poor treatment efficacy / S. Riedl [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes.* – 2011. – Vol. 1808, N 11. – P. 2638–2645. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.026>
7. Sharma, B. Phosphatidylserine: a cancer cell targeting biomarker / B. Sharma, S. S. Kanwar // *Semin. Cancer Biol.* – 2018. – Vol. 52, Pt. 1. – P. 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.012>
8. Sambrook, J. F. *Molecular cloning: a laboratory manual* / J. F. Sambrook, D. W. Russell. – 3rd ed. – New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. – 2100 p.
9. Quan, J. Circular polymerase extension cloning of complex gene libraries and pathways / J. Quan, J. Tian // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4, N 7. – P. e6441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006441>
10. Walker, J. M. *The protein protocol handbook* / J. M. Walker. – 2nd ed. – Totowa : Humana Press, 2002. – 15 p.
11. Vaupel, P. Hypoxia-driven adenosine accumulation: a crucial microenvironmental factor promoting tumor progression / P. Vaupel, A. Mayer // *Advances in Experimental Medicine and Biology* / ed. : C. E. Elwell, T. S. Leung, D. K. Harrison. – New York, 2016. – Vol. 876 : Oxygen Transport to Tissue. – P. 177–183.
12. Зинченко, А. И. Аденозин как потенциальная мишень для биотерапии рака / А. И. Зинченко // *Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2016. – Т. 61, № 4. – С. 118–128.

### References

1. Lee J., Filosa S., Bonvin J., Guyon S., Aponte R. A., Turnbull J. L. Expression, purification, and characterization of recombinant purine nucleoside phosphorylase from *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, 2001, vol. 22, no. 2, pp. 180–188. <https://doi.org/10.1006/prep.2001.1437>
2. Portsmouth D., Hlavaty J., Renner M. Suicide genes for cancer therapy. *Molecular Aspects of Medicine*, 2007, vol. 28, no. 1, pp. 4–41. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2006.12.001>
3. Kraiss J. J., De Crescenzo O., Harrison R. G. Purine nucleoside phosphorylase targeted by Annexin V to breast cancer vasculature for enzyme prodrug therapy. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 10, p. e76403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076403>
4. Parker W. B., King S. A., Allan P. W., Bennett L. L. Jr, Secrist J. A. 3rd, Montgomery J. A. [et al.]. *In vivo* gene therapy of cancer with *E. coli* purine nucleoside phosphorylase. *Human Gene Therapy*, 1997, vol. 8, no. 14, pp. 1637–1644. <https://doi.org/10.1089/hum.1997.8.14-1637>
5. Beresnev A. I., Rymko A. N., Eroshevskaia L. A., Kvach S. V., Kvasnyuk E. I., Zinchenko A. I. Synthesis of fludarabine 5'-monophosphate using bacterial recombinant enzymes. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, vol. 62, no. 1, pp. 7–15 (in Russian).
6. Riedl S. I., Rinner B., Asslaber M., Schaidler H., Walzer S., Novak A., Lohner K., Zweytick D. In search of a novel target – phosphatidylserine exposed by non-apoptotic tumor cells and metastases of malignancies with poor treatment efficacy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2011, vol. 1808, no. 11, pp. 2638–2645. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.026>

7. Sharma B., Kanwar S. S. Phosphatidylserine: a cancer cell targeting biomarker. *Seminars in Cancer Biology*, 2017, vol. 52, pt. 1, pp. 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.012>
8. Sambrook J. F., Russell D. W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 3rd ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press Publ., 2001. 2100 p.
9. Quan J., Tian J. Circular polymerase extension cloning of complex gene libraries and pathways. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4, no. 7, p. e6441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006441>
10. Walker J. M. *The protein protocol handbook*. 2nd ed. Totowa, Humana Press Publ., 2002. 15 p.
11. Vaupel P., Mayer A. Hypoxia-driven adenosine accumulation: a crucial microenvironmental factor promoting tumor progression. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 876. *Oxygen Transport to Tissue*. New York, 2016, pp. 177–183. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3023-4\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3023-4_22)
12. Zinchenko A. I. Adenosine as a potential target for cancer biotherapy. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, vol. 61, no. 4, pp. 118–128 (in Russian).

### Информация об авторах

Булатовский Алексей Борисович – мл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купевича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.bulatovski@yandex.ru

Зинченко Анатолий Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купевича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by

### Information about the authors

Aleksei B. Bulatovski – Junior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.bulatovski@yandex.ru

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

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 581.9(476)  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-245-253>

Поступила в редакцию 02.12.2019  
Received 02.12.2019

**В. Н. Ильина**

*Самарский государственный социально-педагогический университет, Самара, Российская Федерация*

**СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ КУРЧАВКИ  
КУСТАРНИКОВОЙ (*ATRAPHAXIS FRUTESCENS* (L.) C. KOCH, POLYGONACEAE)  
НА ТЕРРИТОРИИ БОТАНИЧЕСКИ ЦЕННЫХ ПРИРОДНЫХ КОМПЛЕКСОВ  
САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Аннотация.** Сокращение площадей, занимаемых петрофитными степями европейской части России, в том числе в Самарской области, обусловленное отчуждением под сельскохозяйственные земли и высокой антропогенной нагрузкой, привело к снижению общей численности видов растений степной и горностепной флоры. Современное состояние видов этих фитоценологических групп в регионах зависит также от эколого-биологических особенностей представителей этих видов.

Объектом изучения является *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch (Polygonaceae). На территории Самарского Предволжья и Заволжья изучена структура и современное состояние 21 ценопопуляции. В ходе работ использованы традиционные популяционно-онтогенетические методики и рекомендации. Выявлена неоднородность онтогенетических спектров, определены региональный базовый онтогенетический спектр ценопопуляций *Atraphaxis frutescens*, основные демографические параметры (в частности, для установления типа ценопопуляций использован критерий возрастной-эффективности Л. А. Животовского). На основании данных о популяционной структуре проанализирована эффективность охраны *Atraphaxis frutescens* в составе памятников природы регионального значения в сравнении с другими ценными природными комплексами, не имеющими природоохранного статуса. Установлено, что при низкой и средней нагрузке на растительный покров памятники природы способны обеспечить сохранность вида в регионе. Значимых отличий в онтогенетических спектрах ценопопуляций на охраняемых территориях и вне их не отмечено. В ценопопуляциях *A. frutescens* на охраняемых территориях заметно некоторое увеличение числа старых генеративных растений (на 31,4 %) и снижение доли субсенильных особей (на 7,1 %). Средняя площадь, занимаемая географической популяцией на территории охраняемых природных комплексов, составляет 850 м<sup>2</sup>, средняя численность генеративных особей – 2011,7; вне охраняемых зон площадь, занимаемая популяцией, – 275 м<sup>2</sup>, численность – 642,4 особи.

Таким образом, памятники природы способствуют лучшему сохранению площади, занимаемой географической популяцией, обеспечивают стабильность численности особей и пространственного их размещения, в том числе формирование крупных агрегаций особей и более равномерное распределение зарегистрированных агрегаций.

**Ключевые слова:** *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch, редкий вид, ценопопуляция, онтогенетическая структура, онтогенетический спектр, тип популяции, Самарская область, граница ареала

**Для цитирования:** Ильина, В. Н. Структурные особенности ценопопуляций курчавки кустарниковой (*Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch, Polygonaceae) на территории ботанически ценных природных комплексов Самарской области / В. Н. Ильина // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 245–253. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-245-253>

**Valentina N. Il'ina**

*Samara State University of Social Sciences and Education, Samara, Russian Federation*

**STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF THE CENOPOPULATIONS OF *ATRAPHAXIS FRUTESCENS* (L.)  
C. KOCH (POLYGONACEAE) IN THE TERRITORY OF BOTANICALLY VALUABLE NATURAL COMPLEXES  
OF THE SAMARA REGION**

**Abstract.** The reduction in the area occupied by the petrophytic steppes of the European part of Russia, including in the Samara region, due to alienation under agricultural land and high anthropogenic pressure, led to a decrease in the total number of plant species in the steppe and mountain-steppe flora. The current state of the species of these phytocenotic groups in the regions also depends on the ecological and biological characteristics of the representatives.

The object of study is *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch (Polygonaceae). On the territory of the Samara Pre-Volga and Trans-Volga regions, the structure and current state of 21 coenopopulations were studied. In the course of the work, traditional

population-ontogenetic techniques and recommendations were used. The heterogeneity of the ontogenetic spectra was revealed, the regional basic ontogenetic spectrum of *Atraphaxis frutescens* cenopopulations, the main demographic parameters (including the age-effectiveness criterion L. A. Zhivotovsky was used to determine the type of cenopopulations) were determined. Based on data on the population structure, the protection efficiency of *Atraphaxis frutescens* as part of nature monuments of regional significance is analyzed in comparison with other valuable natural complexes that do not have conservation status. It has been established that with low and medium load on the vegetation cover, natural monuments are able to ensure the preservation of the species in the region. Significant differences in the ontogenetic spectra of coenopopulations in and beyond protected areas were not noted. In the coenopopulations of *A. frutescens* in protected areas, there is a slight increase in the number of old generative plants (31.4 %) and a decrease in the proportion of subsenile individuals (7.1 %). The average area of the geographical population on the territory of protected natural complexes is 850 m<sup>2</sup>, the average number is 2011.7 generative individuals; outside the protected areas, the population area is 275 m<sup>2</sup> and the number of individuals is 642.4.

Thus, natural monuments contribute to better conservation of the area of the geographical population, ensure the stability of the number of individuals and spatial distribution, including the formation of large aggregations of individuals and a more even distribution of recorded aggregations.

**Keywords:** *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch, rare species, coenopopulation, ontogenetic structure, ontogenetic spectrum, population type, Samara region, range border

**For citation:** Il'ina V. N. Structural characteristics of the cenopopulations of *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch (Polygonaceae) in the territory of botanically valuable natural complexes of the Samara region. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya byalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 245–253 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-245-253>

**Введение.** Многоаспектный мониторинг ценологических популяций редких растений в границах ареала их произрастания проводится в целях сохранения видового и фитоценологического разнообразия природных комплексов, решая при этом различные научные и практические задачи. Особое значение имеют исследования, касающиеся вопросов биологии и экологии не только узколокальных видов, но и более распространенных в разных регионах представителей редкой флоры, что необходимо для последующего выявления особенностей и закономерностей их популяционной структуры, ее динамики и ответной реакции на стрессовые условия, связанные в основном с антропогенной трансформацией природных комплексов [1–3].

На территории Средневожского бассейна к настоящему времени более или менее подробно изучены особенности популяционной структуры около 40 видов редкой флоры. В то же время сведения о 20–30 ее представителях следует считать разрозненными и неполными, а следовательно, требующими существенного дополнения [4–6]. В связи с расположением территории Самарской области в степной и лесостепной зонах и высокой ее освоенностью (что в значительной степени отразилось на состоянии зональных природных комплексов) на популяционно-онтогенетическом уровне закономерно изучаются редкие представители степей. Многие из них находятся под охраной, так как численность особей в регионе снижается при непрекращающемся антропогенном прессе и все еще продолжающемся уничтожении местообитаний.

Исследование структурных особенностей популяций растений дает возможность оценить сохранность редких видов в регионе в составе особо охраняемых природных территорий (ООПТ) и в природных комплексах, не имеющих официального природоохранного статуса. Нередко активное использование территорий, в том числе охраняемых, обуславливает сокращение численности или полное уничтожение редких видов растений, а также изменения онтогенетического состава популяций и их типа. Остается до конца невыясненным, способны ли ООПТ в ранге памятников природы в условиях регионов с высоким уровнем освоения обеспечить сохранность редких видов, хотя это и входит в основные задачи экологического каркаса.

Цель настоящего исследования – сравнительный анализ популяционной структуры редкого вида *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch на особо охраняемых природных территориях и в ботанически ценных природных комплексах, не имеющих статуса охраняемой территории в Самарской области.

**Объекты и методы исследования.** В качестве модельного вида изучен редкий горностепной представитель – курчавка кустарниковая (*Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch) из семейства Polygonaceae. Ее ареал достаточно широк и охватывает юго-восток Восточной Европы, юг Западной и Восточной Сибири, северо-восток Средней Азии, Джунгарию, Монголию [7]. В Самарской области произрастает вблизи северной границы своего распространения. Курчавка приурочена

к сообществам петрофитных степей, встречается на солонцах, глинистых и известняковых склонах, в том числе на обнажениях мела на территории Самарского Предволжья, Высокого и Сыртового Заволжья [8]. Она является редким представителем самарской флоры, включена в список охраняемых с категорией 3 (редкий вид) [9]. Характеризуется как кальцефил, гелиофит, стенобионт. В Самарской области (в Предволжье и Заволжье) структура ценопопуляций *A. frutescens* изучается нами впервые. Имеются сведения об изучении модельного вида на популяционном уровне в Новосибирской [10], Омской областях [11], а в Поволжье – только в Саратовской [12].

Демографическая и пространственная структура ценопопуляций *A. frutescens* определялись нами согласно традиционным методикам [13–16]. При выявлении онтогенетической структуры ценопопуляций согласно стандартным критериям учитывались основные онтогенетические состояния.

На основании полученных данных составлены онтогенетические спектры ценопопуляций в регионе и определен базовый онтогенетический спектр. Для детальной характеристики онтогенетической структуры ценопопуляций применяли основные демографические показатели: индекс восстановления ( $I_v$ ) [16] и индекс старения ( $I_{ст}$ ) [17]. Оценку состояния ценопопуляций проводили с использованием критерия «дельта-омега» проф. Л. А. Животовского [18].

Район исследований включал Самарское Предволжье, Высокое и Сыртовое Заволжье. Исследована 21 ценопопуляция *A. frutescens* на территории следующих памятников природы регионального значения Самарской области: Гора Копейка (Похвистневский район), Урочище Грызлы, Балка Кладовая (Большечерниговский район), Подвальские оползневые террасы (Шигонский район) и в окр. пос. Новосемейкино (Красноярский район), сел Успенка и Чекалино (Сергиевский район). Последние три пункта имеют небольшую площадь, но достаточно богатую флору, включая редкие виды, и представляют собой ценные в ботаническом отношении объекты. Неоднократно научной общественностью поднимался вопрос о необходимости сохранения данных природных комплексов, но законодательно статус их до настоящего времени не оформлен. Значительная антропогенная нагрузка оказывает влияние на растительный покров этих территорий. Это требует незамедлительного принятия закона об их охранном статусе для сохранения биологического, фитоценотического и ландшафтного разнообразия.

**Результаты и их обсуждение.** В основе анализа структуры ценопопуляций лежит исследование онтогенетических спектров, отражающих состояние ценопопуляции в определенный период времени. Однонаправленное развитие ценопопуляции от инвазионного до регрессивного состояния в экологической литературе обозначается термином «большая волна популяции» [14, 15]. Онтогенетическая структура является основным показателем состояния ценопопуляций растений и характеризует каждый этап ее «большой волны».

В онтогенезе *A. frutescens* в условиях лесостепи и степи на территории Самарской области выделены 3 периода – прегенеративный, генеративный, сенильный, 8 онтогенетических состояний – проростки (р), ювенильные (j), имматурные (im), виргинильные (v), молодые генеративные ( $g_1$ ), зрелые генеративные ( $g_2$ ), старые генеративные ( $g_3$ ), субсенильные (ss). Сенильные особи (s) в ценопопуляциях не регистрировали, что связано с отмиранием растений на более ранних стадиях онтогенеза (сенильной, иногда старой генеративной).

Нами изучена онтогенетическая структура 21 ценопопуляции *A. frutescens*. Не все из них являлись полночленными на момент исследования, нередко в составе ценопопуляций отсутствовали проростки и ювенильные особи (иногда и имматурные растения). Однако присутствие в большинстве случаев имматурных и виргинильных растений указывало на пополнение ценопопуляций *A. frutescens* новыми особями, что свидетельствует о достаточной эффективности семенного размножения вида. В целом низкая доля молодых особей, находящихся на начальных этапах онтогенеза (проростки, ювенильные и имматурные) в составе ценопопуляций может свидетельствовать о быстром переходе этих растений в последующие онтогенетические состояния. Также вероятным является низкая всхожесть семян или высокая степень гибели проростков. Как показывает наш опыт изучения редких видов растений петрофитных степей региона, у многих из них на состав онтогенетических спектров оказывают влияние названные выше причины.

Изучены онтогенетические спектры 21 ценопопуляции *A. frutescens* в Самарской области и их усредненные варианты (базовый спектр для региона, спектр для ценопопуляций в составе ООПТ и на неохраняемых территориях) (табл. 1).

Таблица 1. Онтогенетическая структура ценопопуляций *A. frutescens*Table 1. Ontogenetic structure of coenopopulations of *A. frutescens*

№ ценопопуляции	Место произрастание	Онтогенетическая группа особей, %							
		p	j	im	v	g <sub>1</sub>	g <sub>2</sub>	g <sub>3</sub>	ss
1	Гора Копейка (ООПТ)	0	0	3,3	12,9	17,9	12,4	46,4	7,1
2		2,2	1,9	3,4	13,1	14,7	23,0	34,8	6,9
3		0	2,2	2,7	13,8	23	28,9	24,7	4,7
4		0	0	6,6	12,8	13,4	34,1	30,3	2,8
5		0	0	3,6	5,5	16,5	27,1	29,9	17,4
6		2,3	0	3,4	27,2	17,9	29,5	17,4	2,3
7	Урочище Грызлы (ООПТ)	0	3,3	7,3	13	11,9	22,6	29,5	12,4
8	Балка Кладовая (ООПТ)	0	0	0	3,3	26,4	22,6	45,7	2,0
9		0	0	3,7	4,8	24,6	27,9	33,8	5,2
10	Окр. пос. Новосемейкино	0,6	0	2,8	21,3	11,0	47,1	12,8	4,4
11		0	15,1	11,1	8,1	27,9	14,4	20,5	2,9
12	Подвальские оползневые террасы (ООПТ)	0	0	5,6	17,4	12,4	35,7	25,3	3,6
13		5,9	3,8	10,1	14,7	10,0	29,1	20,6	5,8
14		0	0	3,7	14,1	23,8	12,6	39,8	6,0
15		0	0	0	8,2	20,4	25,1	30,2	16,1
16	Окр. с. Чекалино	3,6	2,6	0,9	6,3	33,2	24,8	14,9	13,7
17		2,5	1,3	2,8	2,5	24,7	30,4	21,7	14,1
18		4,1	2,5	6,8	13,6	12,8	25,1	18,7	16,4
19	Окр. с. Успенка	2,6	0	0	12,7	15,8	24,9	34,4	9,6
20		0	0	0	3,8	24,1	15,8	47,8	8,5
21		4,2	2,7	1,9	16,9	14,9	21,7	32,6	5,1
Среднее значение (базовый спектр ЦП)		1,3	1,7	3,8	11,7	18,9	25,5	29,1	8,0
Усредненный спектр ЦП на ООПТ		0,8	0,9	4,1	12,4	17,9	25,4	31,4	7,1
Усредненный спектр ЦП на территориях без статуса ООПТ		2,2	3,0	3,3	10,7	20,6	25,5	25,4	9,3

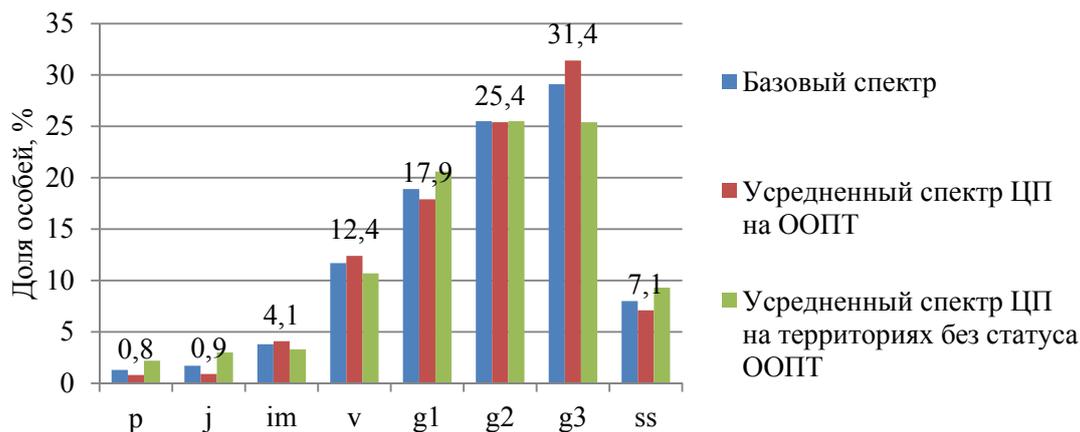
Примечание. ЦП – ценопопуляция, ООПТ – особо охраняемая природная территория.

Составленный усредненный (базовый) онтогенетический спектр для исследованных ценопопуляций *A. frutescens* является одновершинным правосторонним (табл. 1, рисунок). Среди онтогенетических групп преобладает старая генеративная, составляющая абсолютный максимум спектра – 29,1 %. Локальный пик спектра представлен зрелыми генеративными особями, доля которых составляет 25,5 %. Немного меньшими по численности являются группы молодых генеративных и виргинильных особей – 18,9 и 11,7 % соответственно. Доля других онтогенетических групп не превышает 10 %, хотя вклад в ценопопуляции сенильных растений достаточно высокий – 8,0 %. В региональном базовом онтогенетическом спектре прегенеративные особи составляют 18,5 %, генеративные – 73,5, сенильные – 8,0 %.

Проведено сравнение усредненных базовых онтогенетических спектров ценопопуляций данного вида, зарегистрированных на ООПТ и неохраняемых степных участках (табл. 1). В целом ценопопуляции *A. frutescens* имеют сходное соотношение онтогенетических групп особей, однако в составе ООПТ отмечено увеличение доли старых генеративных растений (31,4 %) и снижение доли субсенильных особей (7,1 %).

В то же время разные по охранному статусу территории существенно различаются по общей численности особей и их плотности. На ООПТ число особей *A. frutescens* на 100 м<sup>2</sup> составляет 455,13, вне ООПТ – 312,5; общая плотность – соответственно 4,55 и 3,12 особей на 1 м<sup>2</sup>.

Кроме того, следует учитывать общую площадь и численность географической популяции как совокупности всех ценопопуляций в конкретном пункте исследований, а не только стацио-



Базовый региональный и усредненные онтогенетические спектры для ценопопуляций *A. frutescens*, изученных в составе ООПТ и неохранных территорий (число особей в %)

Basic regional and averaged ontogenetic spectra for coenopopulations of *A. frutescens* studied in protected areas and unprotected areas (number of individuals in %)

нарного участка. Для ООПТ средняя площадь географической популяции составляет 850 м<sup>2</sup>, средняя численность генеративных особей – 2011,7; вне ООПТ – 275 м<sup>2</sup> и 642,4 особи соответственно. Следовательно, ООПТ в ранге памятников природы свою задачу по охране *A. frutescens* в Самарском области в целом выполняют.

Основные демографические параметры, определенные для ценопопуляций модельного вида, представлены в табл. 2. Они позволяют выявить тип ценопопуляций и оценить их современное состояние. Установлено, что в составе ООПТ три из изученных ценопопуляций (№ 6, 7, 13) являются переходными ( $I_3 = 0,31–0,53$ ;  $I_B = 0,37–0,58$ ;  $I_{CT} = 0,02–0,14$ ;  $\Delta = 0,38–0,49$ ;  $\omega = 0,64–0,70$ ). Большинство ценопопуляций (№ 1–4, 8–9, 12, 14) характеризуются как зрелые ( $I_3 = 0,03–0,30$ ;  $I_B = 0,03–0,31$ ;  $I_{CT} = 0,02–0,08$ ;  $\Delta = 0,45–0,54$ ;  $\omega = 0,71–0,82$ ). Две из исследованных ценопопуляций (№ 5 и № 15) следует отнести к стареющим ( $I_3 = 0,09–0,10$ ;  $I_B = 0,11–0,12$ ;  $I_{CT} = 0,19–0,21$ ;  $\Delta = 0,55–0,56$ ;  $\omega = 0,74–0,75$ ).

Вне ООПТ одна зарегистрированная ценопопуляция *A. frutescens* (№ 11) является зрелой ( $I_3 = 0,52$ ;  $I_B = 0,55$ ;  $I_{CT} = 0,03$ ;  $\Delta = 0,34$ ;  $\omega = 0,60$ ). Две ценопопуляции (№ 18 и № 21) относятся к переходному типу ( $I_3 = 0,35–0,37$ ;  $I_B = 0,37–0,48$ ;  $I_{CT} = 0,05–0,20$ ;  $\Delta = 0,45–0,46$ ;  $\omega = 0,64–0,69$ ). Четыре ценопопуляции (№ 10, 16, 17, 19) характеризуются как зрелые ( $I_3 = 0,10–0,33$ ;  $I_B = 0,12–0,35$ ;  $I_{CT} = 0,05–0,16$ ;  $\Delta = 0,42–0,52$ ;  $\omega = 0,71–0,77$ ). Одна ценопопуляция (№ 20) является стареющей ( $I_3 = 0,04$ ;  $I_B = 0,04$ ;  $I_{CT} = 0,09$ ;  $\Delta = 0,57$ ;  $\omega = 0,72$ ).

Таким образом, ценопопуляции вида как в составе ООПТ, так и на территориях, не имеющих природоохранного статуса, разнообразны по онтогенетической структуре. Это свидетельствует об их лабильности на настоящем этапе.

Средний индекс замещения особей в ценопопуляции *A. frutescens* – 0,24, индекс восстановления ценопопуляции – 0,27, индекс старения – 0,07, возрастность – 0,47, эффективность – 0,73. Популяции находятся в удовлетворительном состоянии.

По сравнению с ценопопуляциями в Саратовском Заволжье и Омской области, где часто преобладают прегенеративные особи [11, 12], в Самарской области число молодых растений превышает 25 % лишь в пяти (№ 6, 11, 13, 18, 21). Видимо это связано с большей нарушенностью местобитаний *A. frutescens*, что отражается на онтогенетическом спектре. Однако эти ценопопуляции зарегистрированы в разные годы практически во всех известных географических пунктах (Гора Копейка, Новосемейкино, Подвальские оползневые террасы, Чекалино, Успенка), что свидетельствует об их способности к самоподдержанию в благоприятных условиях.

Все изученные ценопопуляции *A. frutescens* приурочены к сообществам петрофитных степей на склонах южной и близкой к ней экспозиций с крутизной до 30°. Проективное покрытие

почвы травостоем – 3–40 %, наземными частями модельного вида – 1–20 %. Доминантами растительных сообществ с участием *A. frutescens* выступают *Helictotrichon desertorum* (Less.) Nevski, *Koeleria sclerophylla* P. Smirn., *Stipa korshinsky* Roshev., *S. pulcherrima* C. Koch, *Reseda lutea* L., *Astragalus helmii* Fisch., *A. scopiformis* Ledeb., *A. zingeri* Korsh., *Linum flavum* L., *L. uralense* Juz., *Medicago cancellata* Bieb. Нередко курчавка выходит на позиции содоминанта или даже доминанта в фитоценозе [19]. Средняя плотность особей на 1 м<sup>2</sup> в ценопопуляциях: проростков – 0,08, ювенильных – 0,14, иматурных – 0,33, виргинильных – 0,97, молодых генеративных – 1,49, зрелых генеративных – 2,08, старых генеративных – 2,34, субсенильных – 0,58. Подвижность, сухость, трещиноватость, перегревание субстрата в летний период увеличивают долю элиминирующих проростков и ювенильных растений, а иногда и особей на более поздних стадиях развития.

Таблица 2. Основные демографические показатели и тип ценопопуляций *A. frutescens*Table 2. Key demographic indicators and type of coenopopulations of *A. frutescens*

№ ценопопуляции*	p-v, %	g-g, %	ss-s, %	I <sub>1</sub>	I <sub>в</sub>	I <sub>ст</sub>	Δ	ω	Тип ЦП
<i>Ценопопуляции в составе ООПТ</i>									
6	32,9	64,8	2,3	0,49	0,51	0,02	0,38	0,70	Переходная
7	23,6	64	12,4	0,31	0,37	0,14	0,49	0,67	Переходная
13	34,5	59,7	5,8	0,53	0,58	0,06	0,40	0,64	Переходная
1	16,2	76,7	7,1	0,19	0,21	0,08	0,53	0,72	Зрелая
2	20,6	72,5	6,9	0,26	0,28	0,07	0,49	0,71	Зрелая
3	18,7	76,6	4,7	0,23	0,24	0,05	0,45	0,75	Зрелая
4	6,6	77,8	2,8	0,24	0,25	0,03	0,47	0,76	Зрелая
8	3,3	94,7	2	0,03	0,03	0,02	0,54	0,82	Зрелая
9	8,5	86,3	5,2	0,09	0,10	0,05	0,51	0,79	Зрелая
12	23	73,4	3,6	0,30	0,31	0,04	0,45	0,75	Зрелая
14	17,8	76,2	6	0,22	0,23	0,06	0,49	0,72	Зрелая
5	9,1	73,5	17,4	0,10	0,12	0,21	0,56	0,74	Стареющая
15	8,2	75,7	16,1	0,09	0,11	0,19	0,55	0,75	Стареющая
<i>Ценопопуляции вне охраняемых территорий</i>									
11	34,3	62,8	2,9	0,52	0,55	0,03	0,34	0,60	Зреющая
21	25,7	69,2	5,1	0,35	0,37	0,05	0,45	0,69	Переходная
18	27	56,6	16,4	0,37	0,48	0,20	0,46	0,64	Переходная
10	24,7	70,9	4,4	0,33	0,35	0,05	0,42	0,77	Зрелая
16	13,4	72,9	13,7	0,15	0,18	0,16	0,45	0,71	Зрелая
17	9,1	76,8	14,1	0,10	0,12	0,16	0,51	0,75	Зрелая
19	15,3	75,1	9,6	0,18	0,20	0,11	0,52	0,74	Зрелая
20	3,8	87,7	8,5	0,04	0,04	0,09	0,57	0,78	Стареющая
Ср. зн.	18,5	73,5	8,0	0,24	0,27	0,09	0,48	0,72	

\*Номера ценопопуляций соответствуют приведенным в табл. 1.

**Заключение.** Проведенные в Самарской области исследования ценопопуляций редкого вида *A. frutescens*, произрастающего близко к северной границе ареала, свидетельствуют о его удовлетворительном состоянии как на территории ООПТ, так и на неохраняемых степных участках в условиях средней и низкой антропогенной нагрузки на местообитания. Вид имеет узкую экологическую амплитуду. Особенности почвенно-растительного покрова, наряду с антропогенными факторами, влияют на появление и элиминацию прегенеративных особей, что в дальнейшем сказывается на онтогенетическом спектре ценопопуляций модельного вида. В связи с длительным течением онтогенеза популяциям *A. frutescens* свойственно накопление долгоживущих взрослых особей, а численность вида в географических популяциях способна лишь к незначи-

тельному росту (чаще численность уменьшается, иногда остается примерно на одном уровне). Для популяций свойственна флуктуационная динамика. Усредненный (базовый) онтогенетический спектр для исследованных ценопопуляций *A. frutescens* является односторонним, в котором преобладают старые генеративные особи. Анализ онтогенетической структуры ценопопуляций, зарегистрированных на ООПТ и вне границ охраняемых объектов, указывает на значительное разнообразие онтогенетических спектров (встречены переходные, зрелые, стареющие, а вне ООПТ – еще и зреющие ценопопуляции). В целом базовый региональный спектр и спектры ценопопуляций на ООПТ и вне их характеризуются сходными соотношениями онтогенетических групп особей. В большей степени различия между популяциями на ООПТ и неохраняемых участках проявляются в размерах занимаемой площади, общей численности, плотности особей, их агрегированности и наличии промежутков между локусами популяции.

Выявленные особенности популяционной структуры *A. frutescens* свидетельствуют, что при низкой (иногда средней) антропогенной нагрузке на местообитания данный вид находится в удовлетворительном состоянии. Создание ООПТ закономерно способствует повышению общей численности и обеспечивает устойчивость ценопопуляций. Однако памятники природы, испытывающие значительно более высокую антропогенную нагрузку, уже не способны выполнить свою функцию рефугиума редкой флоры.

В целях сохранения вида в регионе требуется соблюдение природоохранного режима памятников природы, поиск новых местообитаний, создание новых ООПТ, дальнейшее изучение биоэкологических особенностей *A. frutescens*.

#### Список использованных источников

1. Гонтарь, Э. М. Возрастная структура ценопопуляций *Hypericum perforatum* (Clusiaceae), *Polemonium caeruleum* (Polemoniaceae) и *Primula macrocalyx* (Primulaceae) в Хакасии, на Алтае и в Восточном Казахстане / Э. М. Гонтарь, И. Ю. Курочкина // Раст. ресурсы. – 2005. – Т. 41, № 2. – С. 17–28.
2. Ильина, В. Н. Структура популяций *Hedysarum gmelinii* Ledeb. на западной границе и в центральной части ареала / В. Н. Ильина // Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 153–157.
3. Сравнительный анализ структуры популяций *Hedysarum grandiflorum* (Fabaceae) в Самарской области и Республике Башкортостан / Л. М. Абрамова [и др.] // Раст. ресурсы. – 2016. – Т. 52, № 2. – С. 225–239.
4. Ильина, В. Н. Исследования ценопопуляций растений (фитоценопопуляций) в Самарской области / В. Н. Ильина // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2010. – Т. 19, № 3. – С. 99–121.
5. Родионова, Г. Н. Популяционные стратегии жизни избранных полукустарничков сем. Бобовые (Fabaceae) в условиях антропогенного пресса / Г. Н. Родионова, В. Н. Ильина // Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук. – 2013. – Т. 15, № 3–2. – С. 776–778.
6. Современное состояние популяций редких растений Узюковского бора (Самарская область) / С. В. Саксонов [и др.] // Теоретические проблемы экологии и эволюции: Шестые Любимцевские чтения, 11-й Всерос. популяц. семинар и Всерос. семинар «Гомеостатические механизмы биологических систем» с общей темой «Проблемы популяционной экологии», Тольятти, 06–10 апреля 2015 г. / под ред. Г. С. Розенберга. – Тольятти, 2015. – С. 266–269.
7. Цвелев, Н. Н. Сем. 56. *Polygonaceae* Juss. – Гречиховые / Н. Н. Цвелев // Флора Восточной Европы. – М.; СПб., 1996. – Т. 9. – С. 98–157.
8. Гвоздикоцветные (*Caryophyllales*, *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae*), Гречихоцветные (*Polygonales*, *Polygonaceae*), Кермековые (*Plumbaginales*, *Plumbaginaceae*), Верескоцветные (*Ericales*, *Ericaceae*, *Pyrolaceae*, *Monotropaceae*), Первоцветные (*Primulales*, *Primulaceae*) и Каперсоцветные (*Capparales*, *Brassicaceae*) в Красной книге Самарской области / С. В. Саксонов [и др.] // Фиторазнообразие Вост. Европы. – 2006. – № 1. – С. 178–214.
9. Красная книга Самарской области : в 2 т. / под ред. С. А. Сенатора, С. В. Саксонова. – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара : Изд-во Самар. гос. обл. акад. (Наянковой), 2017. – Т. 1 : Редкие виды растений и грибов / Е. Г. Бирюкова [и др.]. – 378 с.
10. Состояние ценопопуляций редкого для Новосибирской области вида *Atraphaxis frutescens* (L.) С. Koch (*Polygonaceae* L.) / Т. В. Елисафенко [и др.] // Проблемы регион. экологии. – 2011. – № 3. – С. 133–137.
11. Пликина, Н. В. Оценка состояния популяций редких видов растений Омской области (Исилькульский и Крутинский муниципальные районы) / Н. В. Пликина, А. Н. Ефремов, Г. В. Самойлова // Вестн. Омск. гос. аграр. ун-та. – 2017. – № 1 (25). – С. 49–59.
12. Давиденко, О. Н. Эколого-биологические особенности ценопопуляций *Atraphaxis frutescens* (L.) С. Koch в Саратовском Заволжье / О. Н. Давиденко // Живые и биокосные системы. – 2013. – № 5. – С. 2.
13. Работнов, Т. А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах / Т. А. Работнов // Тр. Ботан. ин-та Акад. наук СССР. Сер. 3, Геоботаника. – 1950. – Вып. 6. – С. 7–204.

14. Уранов, А. А. Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов / А. А. Уранов // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. – 1975. – № 2. – С. 7–34.
15. Ценопопуляции растений: основные понятия и структура / Л. И. Воронцова [и др.] ; отв. ред. Т. И. Серебрякова. – М. : Наука, 1976. – 216 с.
16. Жукова, Л. А. Популяционная жизнь луговых растений / Л. А. Жукова. – Йошкар-Ола : ЛАНАР, 1995. – 224 с.
17. Глотов, Н. В. Об оценке параметров возрастной структуры популяций растений / Н. В. Глотов // Жизнь популяций в гетерогенной среде : сб. науч. материалов 2-го Всерос. популяц. семинара (Йошкар-Ола, 16–20 февр. 1998 г.) : в 2 ч. / под ред. Л. А. Жуковой [и др.]. – Йошкар-Ола, 1998. – Ч. 1. – С. 146–149.
18. Животовский, Л. А. Онтогенетические состояния, эффективная плотность и классификация популяций растений / Л. А. Животовский // Экология. – 2001. – № 1. – С. 3–7.
19. Ильина, В. Н. Онтогенетическая структура популяций *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch (Polygonaceae) вблизи северной границы ареала (Самарская область) / В. Н. Ильина // Вестн. Удмурт. ун-та. Сер. Биология. Науки о Земле. – 2017. – Т. 27, № 3. – С. 271–277.

## References

1. Gontar' E. M., Kurochkina I. Yu. Age structure of cenopopulations of *Hypericum perforatum* (Clusiaceae), *Polemonium caeruleum* (Polemoniaceae) and *Primula macrocalyx* (Primulaceae) in Khakassia, Altai and Eastern Kazakhstan. *Rastitel'nye resursy* [Plant resources], 2005, vol. 41, no. 2, pp. 17–28 (in Russian).
2. Il'ina V. N. Structure of populations of *Hedysarum gmelinii* Ledeb. on the western border and in the central part of the range. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk* [Proceedings of the Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences], 2007, vol. 9, no. 1, pp. 153–157 (in Russian).
3. Abramova L. M., Il'ina V. N., Karimova O. A., Mustafina A. N. Comparative analysis of the structure of populations of *Hedysarum grandiflorum* (Fabaceae) in the Samara region and the Republic of Bashkortostan. *Rastitel'nye resursy* [Plant resources], 2016, vol. 52, no. 2, pp. 225–239 (in Russian).
4. Il'ina V. N. Changes in the basic ontogenetic spectra of populations of some rare plant species in the Samara region under anthropogenic load on habitats. *Samarskaya Luka: problemy regional'noi i global'noi ekologii* [Samara Luke: problems of regional and global ecology], 2015, vol. 24, no. 3, pp. 144–170 (in Russian).
5. Rodionova G. N., Il'ina V. N. Population life strategies of selected semi-shrubs Legumes (Fabaceae) under the conditions of an anthropogenic press. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk* [Proceedings of the Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences], 2013, vol. 15, no. 3, pp. 776–778 (in Russian).
6. Saksonov S. V., Vasyukov V. M., Ivanova A. V., Kozlovskaya O. V., Rakov N. S., Senator S. A. The current state of populations of rare plants of the Uzyukovsky forest (Samara region). *Teoreticheskie problemy ekologii i evolyutsii: Shestye Lyubishchevskie chteniya, 11-i Vserossiiskii populyatsionnyi seminar i Vserossiiskii seminar «Gomeostaticheskie mekhanizmy biologicheskikh sistem» s obshchei temoi "Problemy populyatsionnoi ekologii» (Tol'yatti, 06–10 aprelya 2015 goda)* [Theoretical problems of ecology and evolution: Sixth Lyubishchev readings, 11th All-Russian population seminar and All-Russian seminar “Homeostatic mechanisms of biological systems” with the general theme “Problems of population ecology” (Tolyatti, April 06–10, 2015)]. Tolyatti, 2015, pp. 266–269 (in Russian).
7. Tsevelev N. N. Fam. 56. *Polygonaceae* Juss. *Flora of Eastern Europe. Vol. 9*. Moscow, Saint Petersburg, 1996, pp. 98–157 (in Russian).
8. Saksonov S. V., Golub V. B., Zadul'skaya O. A., Ivanova A. V., Ilina V. N., Ilina N. S. [et al.]. *Cryophyllaceae, Caryophyllales, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Polygonaceae, Plumbaginales, Plumbaginaceae, Ericaceae, Ericaceae, Pyrolaceae, Monotropaceae, Primulaceae, Primulaceae and Capparales, Brassicaceae* in the Red Book of the Samara Region. *Fitoraznoobrazie Vostochnoi Evropy = Phytodiversity of Eastern Europe*, 2006, no. 1, pp. 178–214 (in Russian).
9. Biryukova E. G., Bogdanova Ya. A., Burkova T. N., Vasyukov V. M., Golovlev A. A., Il'ina V. N. [et al.]. *Red Book of Samara Region. Vol. 1. Rare plant and mushroom species. 2nd ed.* Samara, Publishing house of the Samara State Regional Academy (Nayanova), 2017. 378 p. (in Russian).
10. Elisafenko T. V., Zhmud' E. V., Kuban I. N., Dorogina O. V. The condition of cenopopulations of the rare species of *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch (*Polygonaceae* L.) for the Novosibirsk Region. *Problemy regional'noi ekologii = Regional environmental issues*, 2011, no. 3, pp. 133–137 (in Russian).
11. Plikina N. V., Efremov A. N., Samoilova G. V. State estimation of population of rare plant species of the Omsk region (Isilkulsky and Krutinsky districts). *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of Omsk State Agrarian University], 2017, no. 1 (25), pp. 49–59 (in Russian).
12. Davidenko O. N. Ecological and biological features of the cenopopulations of *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch in the Saratov Zavolzhye. *Zhivye i biokosnye sistemy* [Living and biocos systems], 2013, no. 5, p. 2 (in Russian).
13. Rabotnov T. A. The life cycle of perennial herbaceous plants in meadow cenoses. *Trudy Botanicheskogo instituta Akademii nauk SSSR. Seriya 3. Geobotanika* [Proceedings of the Botanical Institute of the USSR Academy of Sciences. Series 3. Geobotany], 1950, iss. 6, pp. 77–204 (in Russian).
14. Uranov A. A. Age spectrum of phytocenopopulations as a function of time and energy wave processes. *Nauchnye doklady vysshei shkoly. Biologicheskie nauki* [Scientific reports of higher education. Biological sciences], 1975, iss. 2, pp. 7–34 (in Russian).

15. Vorontsova L. I., Gattsuk L. E., Egorova V. N., Ermakova I. M., Zhukova L. A., Zaugol'nova L. B. [et al.]. *Cenopopulation of plants: basic concepts and structure*. Moscow, Nauka Publ., 1976. 216 p. (in Russian).
16. Zhukova L. A. *Population life of meadow plants*. Yoshkar-Ola, LANAR Publ., 1995. 224 p. (in Russian).
17. Glotov N. V. On estimation of parameters of the age structure of plant populations. *Zhizn' populyatsii v geterogennoi srede: sbornik nauchnykh materialov 2-go Vserossiiskogo populyatsionnogo seminar (Ioshkar-Ola, 16–20 fevralya 1998 goda). Chast' 1* [Life of populations in a heterogeneous environment: a collection of scientific materials of the 2nd All-Russian population seminar (Yoshkar-Ola, February 16–20, 1998). Part 1]. Yoshkar-Ola, 1998, pp. 146–149 (in Russian).
18. Zhivotovsky L. A. Ontogenetic states, effective density, and classification of plant populations. *Russian Journal of Ecology*, 2001, vol. 32, no. 1, pp. 1–5. <https://doi.org/10.1023/A:1009536128912> (in Russian).
19. Il'ina V. N. Ontogenetic structure of *Atraphaxis frutescens* (L.) C. Koch (Polygonaceae) populations near the northern boundary of the range (Samara region). *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o Zemle = Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth sciences*, 2017, vol. 27, no. 3, pp. 271–277 (in Russian).

### Информация об авторе

Ильина Валентина Николаевна – канд. биол. наук, доцент. Самарский государственный социально-педагогический университет (ул. Максима Горького, 65/67, 443099, г. Самара, Российская Федерация). E-mail: Siva@mail.ru

### Information about the author

Valentina N. Il'ina – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor. Samara State University of Social Sciences and Education (65/67, Maxim Gorky Str., 443099, Samara, Russian Federation). E-mail: Siva@mail.ru

**ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ**  
**SCIENTISTS OF BELARUS**

**ЕКАТЕРИНА ИВАНОВНА СЛОБОЖАНИНА**  
**(К юбилею)**



10 марта 2020 г. исполнилось 75 лет со дня рождения известного ученого-биофизика, заведующего лабораторией медицинской биофизики, лауреата Государственной премии Республики Беларусь в области науки, члена-корреспондента, доктора биологических наук, профессора Екатерины Ивановны Слобожаниной.

Е. И. Слобожанина родилась в городском поселке Лельчицы Гомельской области в семье служащих. В 1962 г. после окончания средней школы с золотой медалью она поступила на биологический факультет Белорусского государственного университета им. В. И. Ленина, который с отличием окончила в 1967 г. Склонность к исследовательской работе, проявленная Е. И. Слобожаниной еще в студенческие годы, послужила основанием для рекомендации ее в аспирантуру Лаборатории биофизики и изотопов АН БССР (с 1973 г. – Институт фотобиологии АН БССР). Обучение в аспиран-

туре по специальности «биофизика» проходило с 1967 по 1972 г. Под руководством известных биофизиков Сергея Васильевича Конева и Евгения Александровича Черницкого она подготовила кандидатскую диссертацию на тему «Люминесценция белков в клетке и биологических мембранах», которую успешно защитила в 1972 г.

Вся научная деятельность Екатерины Ивановны неразрывно связана с Институтом биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (до 2004 г. – Институт фотобиологии НАН Беларуси), где она прошла путь от инженера-технолога (1969 г.) до заместителя директора по научной работе (1993–2011 гг.). С 1999 г. и по настоящее время Е. И. Слобожанина руководит лабораторией медицинской биофизики (до 2004 г. – лаборатория физико-химии биологических мембран).

Под руководством Е. И. Слобожаниной выполнен цикл исследований, посвященных взаимосвязи фотоники и структурной динамики белковых макромолекул в растворе и в составе биологических мембран. Проведено сравнительное изучение чувствительности различных параметров флуоресценции мембранных белков к изменению структурного состояния при воздействии биологически активных веществ и их денатурации; определены основные физико-химические факторы, влияющие на величину конкретных параметров флуоресценции. Разработан чувствительный метод определения малых сдвигов спектров флуоресценции. Обнаружена структурная реорганизация эритроцитарных мембран при старении эритроцитов *in vivo* и *in vitro*, сопровождающаяся изменением текучести липидного бислоя и конформации периферических и интегральных белков. Дано теоретическое обоснование флуоресцентного метода для выявления особенностей структурного состояния белков в биомембранах в норме и при патологии, что явилось основой для широкого использования люминесценции в медико-биологических исследованиях. Полученные в ходе многолетних исследований результаты обобщены в монографии «Спектральный люминесцентный анализ в медицине» (1989 г., совместно с Е. А. Черницким) и в докторской диссертации «Структурная лабильность мембран эритроцитов», которую Е. И. Слобожанина успешно защитила в 1992 г.

За цикл работ «Люминесценция белков и ее использование в научных исследованиях и на практике» в составе коллектива авторов Е. И. Слобожанина удостоена Государственной премии Республики Беларусь (1992 г.)

Е. И. Слобожанина успешно руководит исследованиями по изучению молекулярных и мембранных механизмов возникновения патологических процессов в организме с целью выяснения их патогенеза и создания новых способов диагностики заболеваний человека. Под руководством Екатерины Ивановны выявлены особенности собственной и зондовой люминесценции синовиальной и амниотической жидкостей при развитии патологических процессов в организме и на их основе разработаны экспресс-методы дифференциальной диагностики заболеваний суставов, способ диагностики внутриутробных пороков развития плода и др. Е. И. Слобожаниной получены фундаментальные данные о мембранотропных эффектах токсичных (свинец, никель) и потенциально токсичных (алюминий и др.) металлов *in vivo* и *in vitro*, выявлен механизм токсического действия ионов алюминия на лимфоциты человека, в основе которого лежат процессы деполяризации мембран митохондрий и развитие окислительного стресса. В настоящее время в лаборатории медицинской биофизики под руководством Е. И. Слобожаниной проводятся исследования по определению роли дисбаланса эссенциальных и потенциально токсичных микроэлементов в формировании метаболического синдрома, изучаются молекулярно-мембранные механизмы токсичности амилоидных агрегатов белков. Большой интерес представляют результаты исследования, проведенного под руководством Е. И. Слобожаниной, о роли внутриклеточного лабильного пула ионов цинка в процессах поддержания устойчивости клеток к окислительному стрессу в норме и при метаболическом синдроме. Под руководством Е. И. Слобожаниной установлен редокс-зависимый механизм регуляции функциональной активности мембранных белков-транспортеров, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью клеток, определена роль металлотioneинов в поддержании жизнеспособности клеток при патологии; изучены механизмы эритроза и показана его роль в развитии анемических состояний человека.

Научные труды Е. И. Слобожаниной широко известны как у нас в республике, так и в странах СНГ, а также в дальнем зарубежье. Она участник многих международных конгрессов, съездов и конференций, неоднократно выступала с пленарными докладами. Е. И. Слобожанина является автором свыше 500 научных трудов, из них 5 монографий (2 коллективные), 14 авторских свидетельств и патентов на изобретения.

Большие научные достижения Е. И. Слобожаниной были высоко оценены научной общественностью. В 2000 г. Екатерина Ивановна избрана членом-корреспондентом НАН Беларуси, в 2003 г. ей присвоено ученое звание профессора.

Е. И. Слобожанина плодотворно сотрудничает с учеными Украины, Польши, Германии, Италии (она являлась научным руководителем проектов, выполненных институтом по гранту НАТО и по контракту с МАГАТЭ), а также с учеными, работающими в ряде учреждений НАН Беларуси, Минздрава Республики Беларусь. Так, совместно с сотрудниками БГУ при выполнении задания Государственной программы «Инновационные биотехнологии» разработаны способы получения стероидных гормонов с использованием генно-инженерных микроорганизмов, имеющие большое значение для медицинской практики.

Свою научную работу Е. И. Слобожанина успешно сочетает с большой научно-организационной и общественной деятельностью. С 1993 по 2011 г. она работала заместителем директора по научной работе института. С 1995 г. по настоящее время она является председателем Совета по защите диссертаций Д 01.37.01 по специальности «биофизика» при ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», входит в состав Совета по защите диссертаций Д.03.11.01 по специальности «гематология и переливание крови» при ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» МЗ РБ, является членом совета Белорусской общественной организации фотобиологов и биофизиков, Общества биофизиков России, Общества фотобиологов России, членом Европейского общества биохимиков. В течение нескольких лет она была председателем секции экспертного совета по биологии, медицине, экологии, наукам о Земле и аграрным наукам при Межведомственной комиссии по рассмотрению кандидатур для назначения стипендий Президента Республики Беларусь талантливым молодым ученым. Начиная с 1994 г. Е. И. Слобожанина являлась одним из активных организаторов проведения Годневских чтений в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Как член Совета БООФИБ, она в течение двух десятилетий проводила активную работу по организации

проведения Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем», которую институт проводит раз в два года. В настоящее время Екатерина Ивановна является членом научно-технической секции ГЭС № 9 «Медицинские науки и технологии», членом редакционных коллегий журналов «Новости медико-биологических наук», «Здравоохранение», «Вестник Полесского государственного университета, серия природоведческих наук».

Е. И. Слобожанина награждена почетными грамотами НАН Беларуси (2005, 2009, 2015), почетными грамотами ВАК Республики Беларусь (2006, 2015), Почетной грамотой Министерства здравоохранения Республики Беларусь (2003), памятными знаками «В честь основания Национальной академии наук Беларуси» (2014), «В честь 90-летия Национальной академии наук Беларуси» (2018), удостоена благодарностей Председателя Президиума НАН Беларуси (2010, 2011). Результаты исследований, проведенные под руководством Е. И. Слобожаниной по разработке высокочувствительного метода распознавания патологических клеток человека с использованием биосенсоров на основе фотонных наноструктур оксида цинка для диагностики онкогематологических заболеваний, вошли в топ-10 результатов деятельности ученых НАН Беларуси за 2019 г. в области фундаментальных и прикладных исследований.

Е. И. Слобожанину отличает энергия человека, умеющего привлечь к себе учеников, передать им свои знания, веру в успех, направить работу, заботливо растить молодые кадры. Под руководством Екатерины Ивановны подготовлено 12 кандидатских и 1 докторская диссертация, 20 дипломных работ и магистерских диссертаций. На протяжении последних 10 лет она является председателем ГЭК биологического факультета БГУ.

Говоря о Е. И. Слобожаниной как ученом и человеке, следует отметить, что она доброжелательна и проста в общении с коллегами. Вызывают глубокое уважение ее активная жизненная позиция, высокие моральные качества, житейская мудрость, принципиальность и оптимизм. Талант ученого, педагога и организатора науки сочетается у Екатерины Ивановны с высокими человеческими качествами, благодаря чему она пользуется заслуженным авторитетом среди коллег.

Коллектив Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси поздравляет Екатерину Ивановну с юбилеем и желает ей крепкого здоровья, счастья и дальнейших успехов в работе на благо белорусской науки.

*И. Д. Волотовский, А. Е. Гончаров, Л. М. Лукьяненко,  
Е. В. Князева, Н. Г. Аверина, Л. Ф. Кабашикова*