

# ВЕСЦІ

## НАЦЫЯНАЛЬнай

### АКАДЭМІі НАВУК БЕЛАРУСІ

---

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2020. Т. 65, № 4

---

# ИЗВЕСТИЯ

## НАЦИОНАЛЬНОЙ

### АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

---

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2020. Т. 65, № 4

---

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** – Научно-практический центр  
Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам, 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 17 272-19-19; e-mail: biolvesti@mail.ru  
Сайт: vestibio.belnauka.by*

---

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.

Серия биологических наук. 2020. Т. 65, № 4.

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

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

Подписано в печать 05.10.2020. Выход в свет 27.10.2020. Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 80 экз. Заказ 169.  
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,32 руб., ведомственная подписка – 29,31 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. 4

---

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

### Editorial Board

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

**Valentina G. Kolosovskaya** – *Managing Editor*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Vladimir F. Baginski** – F. Skorina Gomel State University, Gomel, Republic of Belarus  
**Arvids Barsevskis** – Daugavpils University, Daugavpils, Republic of Lithuania  
**Yaroslav B. Blume** – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine  
**Yuri Yu. Dgebuadze** – A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation  
**Vasily E. Gayduk** – A. S. Pushkin Brest State University, Brest, Republic of Belarus  
**Nikolay A. Kolchanov** – Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation  
**Vladimir V. Kuznetsov** – K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation  
**Wanda Olech-Piasecka** – Warsaw University of Life Sciences, Warsaw, Republic of Poland  
**Oleg N. Pugachev** – Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation  
**Alexander I. Rapoport** – Institute of Microbiology and Biotechnology of University of Latvia, Riga, Latvian Republic  
**Victor V. Schwartz** – Institute of Plant Physiology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine  
**Igor A. Tikhonovich** – All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Russian Federation

*Address of the Editorial Office:*

*1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.  
Phone: +375 17 272-19-19; e-mail: biolvesti@mail.ru  
Website: vestibio.belnauka.by*

---

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.

Biological series, 2020, vol. 65, no. 4.

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

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

Sent for press 05.10.2020. Output 27.10.2020. Format 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper.  
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 80 copies. Order 169.  
Number price: individual subscription – 12,32 byn., departmental subscription – 29,31 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., Шалыго Н. В., Гриц А. Н., Карасева Е. Н., Макарова Т. Б., Рыбинская Е. И., Ольшаникова А. Л., Янчевская Т. Г.</b> Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на функционирование защитной системы рассады картофеля ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) при выращивании на искусственном ионообменном субстрате и заражении X-вирусом картофеля .....	391
<b>Адамцевич Н. Ю., Болтовский В. С., Титок В. В.</b> Влияние параметров экстракции на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного ( <i>Lithospermum officinale</i> L.) .....	402
<b>Годлевская Е. В., Шпак А. В.</b> Рукокрылые в коллекции Зоологического музея Белорусского государственного университета .....	412
<b>Гомель К. В., Павлющук Т. Е., Никифоров М. Е., Волнистый А. А.</b> Генетическое разнообразие и популяционно-генетическая структура тетерева <i>Lyrurus tetrix</i> Linnaeus, 1758 в Беларуси (на англ.) .....	421
<b>Вабищевич В. В., Волчкевич И. Г., Конопцкая М. В.</b> Идентификация и особенности векторной передачи <i>Pepino mosaic virus</i> в культуре томата защищенного грунта .....	432
<b>Ермохин М. В.</b> Дендрохронологическое районирование сосны обыкновенной в Беларуси .....	441
<b>Ларченко А. И., Велигуров П. А., Семенова А. А., Волнистый А. А., Соловей И. А.</b> Новые данные о видовом разнообразии рукокрылых Национального парка «Нарочанский» (Беларусь) .....	454
<b>Скуратович Т. А., Павлютина Н. Б., Молчан О. В.</b> Оценка эффективности действия 2,4-Д, клопиралида и глифосата против амброзии полыннолистной, распространенной на территории Беларуси .....	462
<b>Шуканов В. П., Машкин И. А., Корытько Л. А., Мельникова Е. В., Полянская С. Н.</b> Повышение качества и болезнестойчивости посадочного материала хвойных пород при обработке рострегулирующими препаратами .....	473
<b>Заерко А. В., Федина Е. М., Зиматкин С. М.</b> Динамика гистологических изменений гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы в постнатальном онтогенезе .....	489

### **АГЛЯДЫ**

<b>Абашкин В. М., Терехова М. М., Галец-Буй И. В., Лозникова С. Ж., Дмитрук О. Г., Миловска К., Щербин Д. Г.</b> Взаимодействие дендримеров и дендронизированных наночастиц с белками .....	497
---	-----

### **ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ**

<b>Александр Владимирович Кильчевский</b> (К 65-летию со дня рождения) .....	510
--	-----

**CONTENTS**

<b>Viazau Y. V., Kaliha T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Y., Shalygo N. V., Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Rybinskaya K. I., Olshanikova A. L., Yanchevskaya T. G.</b> Influence of exogenous jasmonic acid on the functioning of a defense system of potato seedlings ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) grown on artificial ion exchange substrate and infected with potato virus X.....	391
<b>Adamtsevich N. Yu., Boltovskiy V. S., Titok V. V.</b> The influence of extraction parameters on the output of flavonoids from littlewale ( <i>Lithospermum officinale</i> L.).....	402
<b>Godlevska L. V., Shpak A. V.</b> Bats in the collection of the Zoological museum of Belarusian State University.....	412
<b>Homel K. V., Pavlushchick T. Y., Nikiforov M. E., Valnisty A. A.</b> Genetic diversity and structure of the black grouse <i>Lyrurus tetrix</i> Linnaeus, 1758 population in Belarus.....	421
<b>Vabishchevich V. V., Vauchkevich I. G., Kanapatskaya M. V.</b> Identification and assessment of vector transmission of the <i>Pepino mosaic virus</i> in the culture of tomato protected ground.....	432
<b>Yermokhin M. V.</b> Dendrochronological zoning of Scots pine in Belarus.....	441
<b>Larchanka A., Velihurau P. A., Semyonova A. A., Valnisty A. A., Solovej I. A.</b> New data on bats species diversity in National Park Narochansky (Belarus).....	454
<b>Skuratovich T. A., Pavlyutina N. B., Molchan O. B.</b> Evaluation of the efficiency of 2,4-D, clopyralid and glyphosate in relation to <i>Ambrosia artemisiifolia</i> L. growing in Belarus.....	462
<b>Shukanov V. P., Mashkin I. A., Korytsko L. A., Melnikova Ye. V., Polyanskaya S. N.</b> Improving the quality and disease resistance of planting material when treating with growth regulators.....	473
<b>Zaerko A. V., Phedina K. M., Zimatkin S. M.</b> Dynamics of histological changes in histaminergic neurons of the rat hypothalamus in postnatal ontogenesis.....	489

**REVIEWS**

<b>Abashkin V. M., Terehova M. M., Halets-Bui I. V., Loznikova S. G., Dzmitruk V. G., Milowska K., Shcharbin D. G.</b> Interactions of dendrimers and dendronized nanoparticles with proteins.....	497
--	-----

**SCIENTISTS OF BELARUS**

<b>Alexander Vladimirovich Kilchevsky</b> (To the 65th Anniversary).....	510
--	-----

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 615.451.16:615.322  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-391-401>

Поступила в редакцию 24.06.2020  
Received 24.06.2020

Е. В. Вязов<sup>1</sup>, Т. Г. Каляга<sup>1</sup>, Е. А. Филипчик<sup>1</sup>, О. Ю. Сафонова<sup>1</sup>, Н. В. Шалыго<sup>1</sup>, А. Н. Гриц<sup>2</sup>,  
Е. Н. Карасева<sup>2</sup>, Т. Б. Макарова<sup>2</sup>, Е. И. Рыбинская<sup>2</sup>, А. Л. Ольшаникова<sup>2</sup>, Т. Г. Янчевская<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 ЭКЗОГЕННОЙ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ РАССАДЫ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ИСКУССТВЕННОМ ИОНООБМЕННОМ СУБСТРАТЕ И ЗАРАЖЕНИИ X-ВИРУСОМ КАРТОФЕЛЯ

**Аннотация.** Изучены содержание активных форм кислорода (АФК), активность ферментов аскорбат-глутатионового цикла, проанализировано количество низкомолекулярных антиоксидантов: аскорбата и глутатиона, активность фенольной пероксидазы, содержание водорастворимых фенолов и уровень экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа (*HSR*) и генов PR-белков (*Chit*, *Glu* и *TLP*) в рассаде картофеля, выращенной на ионообменном субстрате в присутствии жасмоновой кислоты (ЖК) в концентрациях  $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М, при заражении X-вирусом картофеля (ХВК). Показано накопление АФК, увеличение содержания восстановленного аскорбата и интенсивное потребление восстановленного глутатиона в рассаде картофеля под действием ЖК, а также резкое усиление экспрессии генов *HSR*, *Chit*, *Glu* и *TLP* в листьях рассады картофеля, выращиваемой на субстрате с добавлением  $10^{-6}$  М ЖК, до заражения ХВК. В контрольных растениях уровень экспрессии генов *HSR* и *TLP* увеличивался только после заражения ХВК.

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

**Для цитирования:** Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на функционирование защитной системы рассады картофеля (*Solanum tuberosum* L.) при выращивании на искусственном ионообменном субстрате и заражении X-вирусом картофеля / Е. В. Вязов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 391–401. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-391-401>

Yauhen V. Viazau<sup>1</sup>, Tatsiana G. Kaliaha<sup>1</sup>, Elena A. Filipchik<sup>1</sup>, Olga Y. Safonova<sup>1</sup>, Nikolai V. Shalygo<sup>1</sup>,  
Aleksandr N. Grits<sup>2</sup>, Elena N. Karasiova<sup>2</sup>, Tatsiana B. Makarova<sup>2</sup>, Katsiarina I. Rybinskaya<sup>2</sup>,  
Anna L. Olshankovaya<sup>2</sup>, Tamara G. Yanchevskaya<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

## INFLUENCE OF EXOGENOUS JASMONIC ACID ON THE FUNCTIONING OF A DEFENSE SYSTEM OF POTATO SEEDLINGS (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) GROWN ON ARTIFICIAL ION EXCHANGE SUBSTRATE AND INFECTED WITH POTATO VIRUS X

**Abstract.** The content of reactive oxygen species, the activities of ascorbate-glutathione cycle enzymes, the content of low molecular weight antioxidants: ascorbate and glutathione, the activity of phenolic peroxidase, the content of water-soluble phenols and the expression level of the hypersensitive response marker gene (*HSR*) and PR protein genes (*Chit*, *Glu* and *TLP*) in potato seedlings grown on an ion-exchange substrate in the presence of jasmonic acid at a concentration of  $10^{-8}$  and  $10^{-6}$  M and infected with potato virus X were studied. Accumulation of reactive oxygen species, an increase in the content of reduced ascorbate and an intensive consumption of reduced glutathione upon action of jasmonic acid, as well as a sharp increase in the expression of *HSR*, *Chit*, *Glu*, and *TLP* genes in the leaves of potato seedlings grown on a substrate with the addition of  $10^{-6}$  M jasmonic acid before infection were shown. In control plants, the expression of the *HSR* and *TLP* genes increased only after infection with potato virus X.

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

**For citation:** Viazau Y. V., Kaliaha T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Y., Shalygo N. V., Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Rybinskaya K. I., Olshankovaya A. L., Yanchevskaya T. G. Influence of exogenous jasmonic acid on the functioning of a defense system of potato seedlings (*Solanum tuberosum* L.) grown on artificial ion exchange substrate and infected with potato virus X. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 391–401 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-391-401>

**Введение.** Большинство химических средств защиты растений являются опаснейшими пестицидами. Кроме того, в популяциях патогенов появляются резистентные к ним формы, что приводит к снижению эффективности действия этих средств защиты. Поэтому поиск альтернативных, экологически чистых путей решения проблемы защиты растений направлен на биохимическую регуляцию иммунного потенциала растений и формирование устойчивости к определенным патогенам. Для этих целей можно использовать ряд экологически безопасных индукторов, среди которых салициловая кислота, жасмоновая кислота (ЖК), хитозан,  $\alpha$ -токоферол и микробиологические препараты [1, 2]. Под их воздействием в растении формируется 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 корнеобитаемой среде [3–5].

В литературе широко обсуждаются вопросы влияния ЖК на функционирование защитной системы растений, в том числе ее участие в механизмах инициации индуцированной устойчивости, однако многие данные крайне противоречивы [6, 7]. Предполагается, что ЖК участвует в формировании индуцированной системной устойчивости через накопление жасмонатов и активацию широкого спектра защитных реакций [4]. Имеются данные о том, что ЖК активирует иммунитет против фитофагов и некротрофов [8]. ЖК и ее конъюгаты, такие как метилжасмонат и жасмонат-изолейцин, широко распространены в растительном мире и являются естественными регуляторами физиологических процессов. В первую очередь в систему защиты растений от патогенов вовлекаются жасмонаты. В последние десятилетия фитофизиологами активно изучаются функции оксипинонов – биологически активных молекул, образующихся в ходе окисления полиненасыщенных жирных кислот. Интерес, проявляемый в настоящее время к окислительному метаболизму жирных кислот в растениях, в значительной степени связан с успехами в исследовании простагландинов, лейкотриенов, липоксинов и тромбоксанов, получивших групповое название «эйкозаноиды». Сигнально-регуляторные функции этих соединений в животных клетках, включая экспрессию генов, изучены весьма подробно [9]. Для растений наиболее характерны ненасыщенные жирные кислоты октадеканойдного ряда [3], к которым относится ЖК и ее производные. Механизмы активации экспрессии жасмонат-чувствительных генов к настоящему времени известны лишь в общих чертах. Первичный рецептор, воспринимающий сигнал ЖК, до сих пор не известен [4]. Считается, что одним из участников передачи сигнала ЖК является белок JAR1, проявляющий активность аминотрансферазы, которая конъюгирует аминокислоты с ЖК [5]. ЖК как индуктор болезнестойчивости относится к числу химических средств защиты непрямого (не биоцидного) действия, оказывающих влияние на возбудителей болезней через усиление в растениях природных реакций болезнестойчивости. Такие индукторы могут длительное время защищать растения от заражения патогенами, что важно при микроразмножении растений картофеля *in vitro*, адаптации их *in vivo* и получении из них мини-клубней. Особенно актуальна защита от одного из наиболее распространенных картофельных патогенов – X-вируса картофеля (ХВК) [10].

Для изучения особенностей функционирования защитной системы устойчивых растений можно использовать молекулярно-биологические подходы, в частности анализ уровней экспрессии генов, кодирующих антипатогенные защитные белки (в том числе PR-белки). На примере растений пшеницы показано, что повышенная экспрессия генов, кодирующих PR-белки  $\beta$ -1,3-глюканазу, хитиназу, тауматин-подобный белок и ингибитор протеиназ, регистрируется в сортах, которые в среднем более устойчивы к патогенам [11]. Помимо этого, активность защитной системы растения отражают такие показатели, как активность фенольной пероксидазы (ФПО), участвующей в лигнификации клеточной стенки [12], содержание фенольных соединений и активных форм кислорода (АФК), играющих важную роль в формировании ответной реакции растительного организма на внедрение патогена, а также активность и содержание компонентов аскорбат-глутатионового цикла – одного из основных путей нейтрализации образующихся при действии различных стрессоров АФК.

Цель настоящей работы – исследование защитного эффекта экологически безопасного природного индуктора устойчивости растений (жасмоновой кислоты в различных концентрациях) в составе корнеобитаемой среды при их выращивании на ионообменном субстрате торговой марки «Триона», разработанной в Институте экспериментальной ботаники НАН Беларуси.

В задачи исследования входил анализ содержания АФК, в том числе пероксида водорода, водорастворимых фенольных соединений и низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбата и глутатиона), активности фенольной пероксидазы и ферментов аскорбат-глутатионового цикла, а также экспрессии генов PR-белков и гена маркера гиперчувствительного ответа в листьях рассады картофеля в условиях заражения Х-вирусом картофеля.

**Объекты и методы исследования.** В качестве объекта исследования использовали рассаду картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Уладар, которую выращивали под лампами ДНаТ 400 (дуговые натриевые трубчатые лампы) на ионообменном субстрате, содержащем экологически безопасный индуктор устойчивости растений ЖК ( $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М). В состав субстрата входили также цеолит, катионит Purolite C-100, анионит Tulsion A2ХМП и перлит в соотношении 14:1:5:20. В качестве контроля выступали растения, выращиваемые в тех же условиях, но без внесения ЖК в состав субстрата. Заражение ХВК проводили путем микроинъекции в верхушечную часть 30-дневных растений, одновременно натирая клеточным соком ХВК-доноров растений картофеля при помощи мелкозернистой наждачной бумаги [13]. Навески четвертого листа растения брали для исследования непосредственно перед заражением на 30-е сутки выращивания, а также через 1 неделю после заражения ХВК.

Определение общего содержания АФК проводили в экстрактах растений картофеля с помощью зонда – 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата, способного окисляться в присутствии АФК до флуоресцирующего продукта дихлорфлуоресцеина. АФК определяли, регистрируя флуоресценцию дихлорфлуоресцеина ( $\lambda_{\text{возб}} = 496$  нм,  $\lambda_{\text{набл}} = 524$  нм) [14].

Содержание пероксида водорода определяли с помощью флуоресцентного метода, в основе которого лежит реакция окисления скополетина в присутствии  $\text{H}_2\text{O}_2$ , катализируемая пероксидазой хрена.  $\text{H}_2\text{O}_2$  определяли, регистрируя флуоресценцию скополетина ( $\lambda_{\text{возб}} = 370$  нм,  $\lambda_{\text{рег}} = 464$  нм) на спектрофлуориметре Solar (Беларусь) [15].

Для определения активности ФПО использовали методику, описанную в работе [16] и основанную на регистрации потребления гваякола в присутствии пероксида водорода. 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  $\epsilon = 25,5 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$  [16].

Содержание водорастворимых фенольных соединений определяли спектрофотометрическим методом при 750 нм на спектрофотометре Solar и рассчитывали в относительных единицах [17].

Активность аскорбатпероксидазы (АПП) определяли, используя реакцию восстановления пероксида водорода аскорбатом. Кинетику потребления аскорбата регистрировали в течение 20 с при 290 нм на спектрофотометре Uvikon 931. Активность фермента рассчитывали, используя коэффициент экстинкции  $\epsilon = 2,8 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$  [18]. Общую активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по методу, описанному в работе [19], который основан на измерении скорости снижения оптической плотности при длине волны 340 нм, обусловленной окислением НАДФН<sup>+</sup>. Активность ГР рассчитывали, используя коэффициент экстинкции  $\epsilon = 6,22 \text{ мкМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$  [19].

Уровни общего и восстановленного аскорбата определяли с помощью спектрофотометрического метода при 524 нм. Содержание аскорбата рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции  $8,7 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$  [20].

Содержание окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона определяли с помощью спектрофлуориметрического метода, модифицированного в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, в основе которого лежит способность *o*-фталевого альдегида образовывать флуоресцирующий продукт с GSSG при pH 12,0 и с GSH при pH 8,0 [21].

Содержание общего белка определяли по методу Бредфорда [22].

Для определения уровня экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа *HSR* и генов *Chit*, *Glu*, *TLP*, кодирующих PR-белки (хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу и тауматин-подобный белок

соответственно), из листьев картофеля выделяли общую рибонуклеиновую кислоту (РНК) с помощью реагента TRIzol<sup>TM</sup> (AppliChem, Германия). Количество выделенной РНК определяли по поглощению при 260 нм на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США). Степень чистоты полученных образцов оценивали по соотношению  $A_{260}/A_{280}$  (данный показатель должен быть больше 1,7) [23]. Для получения кДНК на матрице РНК использовали реакцию обратной транскрипции с применением обратной транскриптазы вируса мышиной лейкемии Молони. Синтез кДНК проводили с использованием ProtoScript II Reverse Transcriptase (BioLabs, США) в амплификаторе MJ Mini (Bio-Rad, США). Полученную кДНК хранили в морозильной камере при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  [21]. Подбор олигонуклеотидных праймеров, специфичных к генам защитных белков, проводили, используя последовательности мРНК выбранных генов, найденных в базе данных Nucleotide NCBI. Праймеры синтезировали в лаборатории ДНК-праймеров Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Дизайн праймеров для генов *Chit*, *Glu*, *TLP* и *HSR* осуществляли самостоятельно. Нуклеотидная последовательность праймеров для гена-нормализатора *EF* (кодирует фактор элонгации  $1\alpha$ ), используемого при количественных расчетах уровня экспрессии изучаемых генов, была взята из работы [24]. 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×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. Уровень экспрессии генов определяли в относительных единицах, нормируя его по экспрессии гена-нормализатора *EF*.

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 [25]. Все описанные эксперименты проводили в трехкратной биологической повторности.

**Результаты и их обсуждение.** Изучено влияние ЖК на содержание АФК, а также на содержание и активность компонентов антиоксидантной системы рассады картофеля.

Показано, что исходно (до заражения) количество АФК в контроле и при использовании  $10^{-8}$  М ЖК было одинаковым. При более высокой концентрации ЖК ( $10^{-6}$  М) уровень АФК в рассаде превышал контрольное значение на 24 % (рис. 1, *a*). Напротив, содержание  $\text{H}_2\text{O}_2$  исходно возрастало по мере увеличения концентрации ЖК (рис. 1, *b*). В инфицированных ХВК растениях через 1 неделю после заражения происходило повышение содержания АФК в 1,5–2 раза по сравнению с исходным уровнем и оказалось практически одинаковым во всех изученных вариантах, в то время как содержание пероксида водорода резко возрастало (в 9 раз) только в контроле. В опытных вариантах ( $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М ЖК) в таких условиях содержание  $\text{H}_2\text{O}_2$  уменьшилось, особенно при использовании  $10^{-8}$  М ЖК (рис. 1, *b*). Таким образом, при использовании ЖК в концентрации  $10^{-6}$  М наиболее высокий уровень АФК в рассаде картофеля отмечается как до, так и после заражения ХВК.

Анализ активности АПР и содержания аскорбата показывает, что активность фермента в растениях картофеля до заражения вирусом в контрольных и опытных образцах достигала в среднем  $20\text{ нмоль}\cdot\text{мкг}^{-1}\text{ белка}\cdot\text{ч}^{-1}$  (рис. 2, *a*). При этом количество восстановленного аскорбата возрастало по мере увеличения концентрации ЖК (рис. 2, *b*).

На рис. 3 показан уровень активности ГР и соотношение GSH/GSSG в 30-дневной рассаде картофеля до заражения. Из рис. 3 видно, что активность ГР была приблизительно на одном уровне во всех вариантах и составляла в среднем  $1,9\text{ нмоль}\cdot\text{мкг}^{-1}\text{ белка}\cdot\text{ч}^{-1}$  (рис. 3, *a*). Вместе с тем в рассаде картофеля, выращенной на ионообменном субстрате, наибольшее соотношение GSH/GSSG было в контрольном образце, а при обработке  $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М ЖК данный показатель снижался в среднем в 1,4 раза (рис. 3, *b*). Уменьшение соотношения GSH/GSSG в опытных образцах

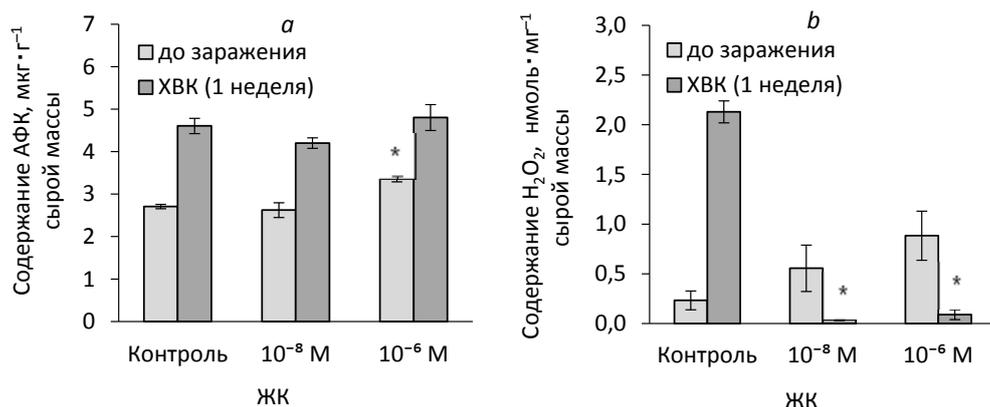


Рис. 1. Общее содержание АФК (a) и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10<sup>-8</sup> и 10<sup>-6</sup> М, и зараженной ХВК. Контроль – без добавления ЖК. Здесь и далее: \* – статистически значимые отличия от контроля ( $p \leq 0,05$ )

Fig. 1. Total reactive oxygen species (a) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (b) contents in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10<sup>-8</sup> and 10<sup>-6</sup> M jasmonic acid and infected with potato virus X. Control – without jasmonic acid. Here and elsewhere: \* – statistically significant difference from control ( $p \leq 0,05$ )

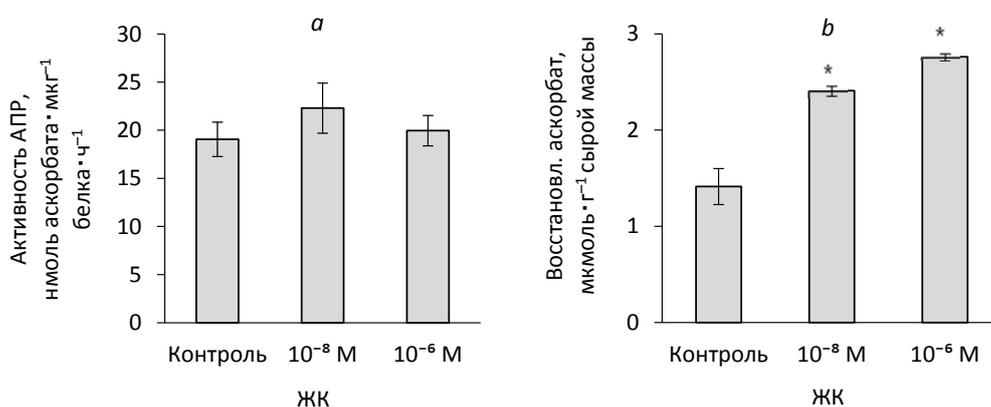


Рис. 2. Активность АПР (a) и содержание восстановленного аскорбата (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10<sup>-8</sup> и 10<sup>-6</sup> М. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 2. Ascorbate peroxidase activity (a) and reduced ascorbate content (b) in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10<sup>-8</sup> and 10<sup>-6</sup> M jasmonic acid. Control – without jasmonic acid

растений картофеля, по-видимому, связано с расходом GSH на пополнение уровня восстановленного аскорбата, содержание которого увеличивается при действии ЖК (10<sup>-6</sup> и 10<sup>-8</sup> М), что показано выше.

Содержание водорастворимых фенолов в растениях, выращенных на субстрате, содержащем в качестве индуктора устойчивости ЖК, было ниже контроля как исходно, так и в зараженных ХВК. Наиболее низкий уровень водорастворимых фенолов регистрировали в растениях при использовании ЖК в концентрации 10<sup>-6</sup> М (рис. 4, a). Повышение активности ФПО зарегистрировано только в контрольном варианте до заражения растений ХВК (рис. 4, b). Через 1 неделю после заражения активность данного фермента снижалась. Полученные данные свидетельствуют о том, что внесение ЖК в состав корнеобитаемой среды рассады картофеля приводит к снижению общего содержания водорастворимых фенолов и активности ФПО. Необходимо отметить, что как водорастворимые фенольные соединения, так и ФПО играют важную роль в защите растения от патогенов, участвуя в лигнификации клеточной стенки и нейтрализации образующихся АФК [12, 26]. Поэтому полученные результаты представляют особый интерес с учетом известной роли ЖК в активации антипатогенного ответа растения. Снижение количества фенолов на фоне практически не изменяющейся активности АПР можно объяснить необходимостью

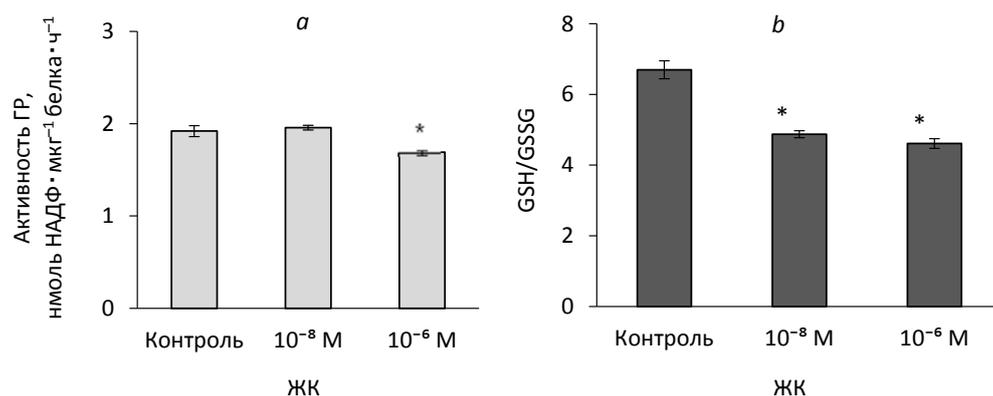


Рис. 3. Активность ГР (a) и соотношение GSH/GSSG (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях  $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 3. Glutathione reductase activity (a) and GSH/GSSG ratio (b) in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing  $10^{-8}$  and  $10^{-6}$  M jasmonic acid. Control – without jasmonic acid

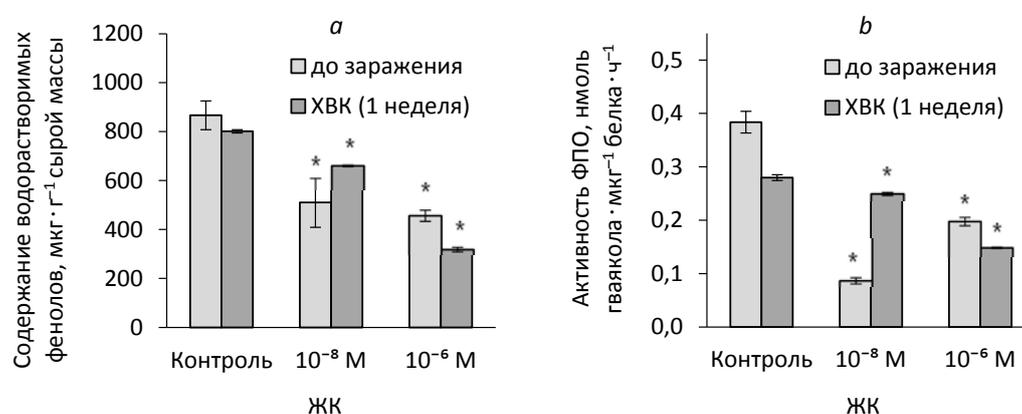


Рис. 4. Общее содержание водорастворимых фенолов (a) и активность ФПО (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях  $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М, и зараженной ХВК. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 4. Total water-soluble phenolics content (a) and the activity of phenolic peroxidase (b) in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing  $10^{-8}$  and  $10^{-6}$  M jasmonic acid and infected with potato virus X. Control – without jasmonic acid

поддерживать повышенный уровень АФК с целью обеспечения реализации их сигнальной роли и последующей активации защитных генов, а также непосредственным участием АФК в гиперчувствительном ответе растения на внедрение патогена.

С помощью ПЦР-РВ было изучено влияние ЖК на экспрессию 4 генов, кодирующих антипатогенные защитные белки: белок-маркер гиперчувствительного ответа, хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу и тауматин-подобный белок (*HSR*, *Chit*, *Glu* и *TLP* соответственно). Показано наличие экспрессии гена *HSR* как в контрольных, так и в опытных растениях до заражения ХВК. При этом наиболее высокий уровень экспрессии *HSR* зарегистрирован в варианте с использованием  $10^{-6}$  М ЖК (рис. 5, a). Кроме того, в растениях этого варианта до заражения вирусом регистрировали также и максимальные уровни экспрессии генов *Chit*, *Glu* и *TLP* (рис. 5, b–d). Полученные данные свидетельствуют о том, что в растениях, выращенных на среде с добавлением  $10^{-6}$  М ЖК, антипатогенная защитная система была активирована. Через 1 неделю после заражения ХВК динамика изменения уровней экспрессии изученных генов в контроле и в опытных растениях существенно отличалась (рис. 5, b–d). Так, в контрольных растениях резко (в 3,28 раза по сравнению с исходным уровнем) возросла экспрессия гена *HSR*, а кроме того, отмечалась активация экспрессии гена *TLP*.

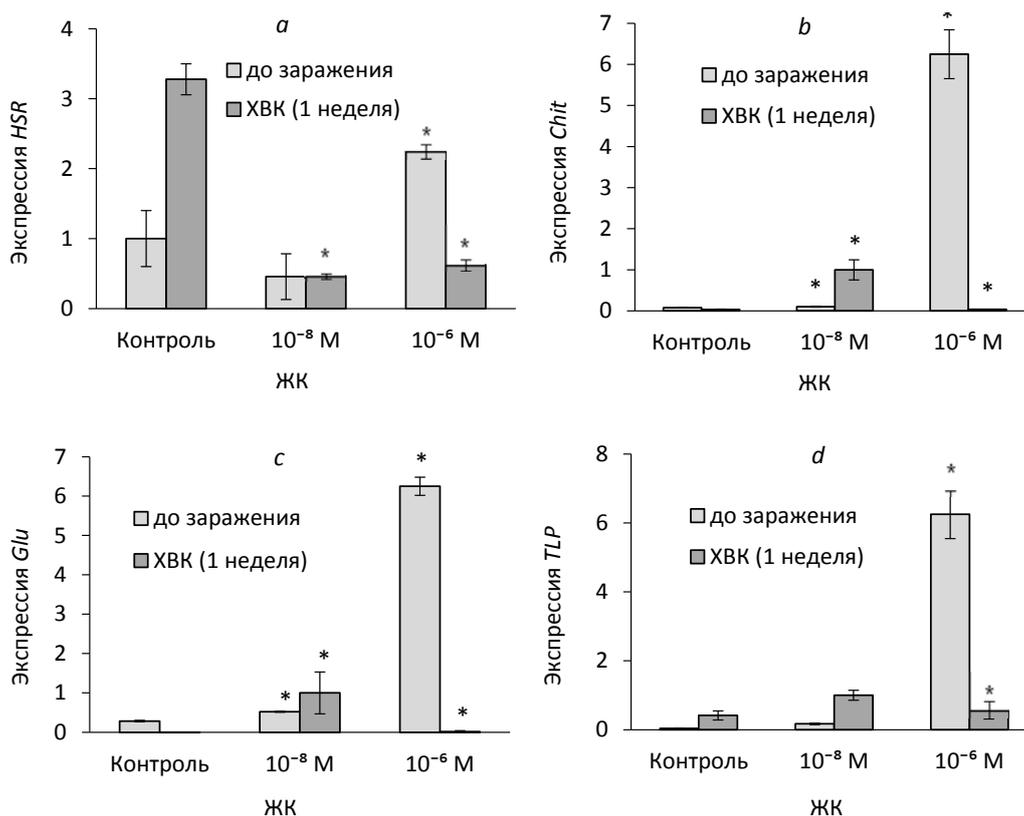


Рис. 5. Уровень экспрессии генов (*a* – *HSR*; *b* – *Chit*; *c* – *Glu*; *d* – *TLP*), кодирующих антипатогенные защитные белки, в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях  $10^{-8}$  и  $10^{-6}$  М, и зараженной ХВК. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 5. Expression of genes (*a* – *HSR*; *b* – *Chit*; *c* – *Glu*; *d* – *TLP*), encoding antipathogenic defense proteins in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing  $10^{-8}$  and  $10^{-6}$  M jasmonic acid and infected with potato virus X. Control – without jasmonic acid

В зараженных ХВК растениях, выращиваемых с добавлением  $10^{-8}$  М ЖК, повышалась экспрессия генов *Chit*, *Glu* и *TLP*, а уровень экспрессии гена *HSR* практически не изменялся относительно исходного значения. В зараженных растениях варианта  $10^{-6}$  М ЖК уровень экспрессии гена *HSR* был ниже по сравнению с инфицированными растениями контроля, а также ниже исходного уровня, зарегистрированного в этом же варианте. Выявленные различия в уровнях экспрессии генов вполне объяснимы. Гиперчувствительный ответ – один из основных механизмов препятствования распространению микробных патогенов в растении, характеризующийся гибелью клеток, которые окружают инфицированную область и запускают процессы, формирующие системную устойчивость растения. Гены *Chit*, *Glu* и *TLP* кодируют важнейшие белки защитной системы. Хитиназа и  $\beta$ -1,3-глюканаза расщепляют хитин и  $\beta$ -1,3-глюкан грибковых патогенов. Тауматин-подобный белок участвует в разрушении мембран грибковых патогенов. Известно участие ЖК в активации генов, кодирующих защитные белки, играющие роль в ответе растения на действие ряда стрессоров [27–29]. Отсутствие увеличения экспрессии генов *HSR*, *Chit*, *Glu* и *TLP* в инфицированных ХВК растениях, выращенных на субстрате с добавлением  $10^{-6}$  М ЖК, может быть обусловлено высокой исходной экспрессией этих генов, достаточной для защиты от вируса. Напротив, контрольные растения характеризовались низким исходным уровнем экспрессии изученных генов. В этом случае при заражении рассады ХВК в растениях реализовались механизмы защиты через гиперчувствительный ответ. На это указывает резкое возрастание в них экспрессии гена *HSR* и высокий уровень пероксида водорода. Отдельно следует отметить повышение экспрессии гена *TLP* в контрольных растениях, зараженных ХВК. По-видимому, тауматин-подобный белок, кодируемый этим геном, важен для защиты растений картофеля от X-вируса.

**Заклучение.** Добавление ЖК в ионообменный субстрат при выращивании рассады картофеля без заражения ХВК приводит к увеличению общего содержания АФК, в том числе пероксида водорода. В таких условиях наблюдается накопление восстановленного аскорбата и интенсивное потребление GSH в листьях рассады. Показано, что использование высокой концентрации ЖК ( $10^{-6}$  М) вызывает резкую активацию экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа *HSR* и генов PR-белков – *Chit*, *Glu* и *TLP*, кодирующих хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу и тауматин-подобный белок соответственно, еще в незараженных растениях. Установлено, что при заражении такой рассады ХВК через 1 неделю после инфицирования экспрессия указанных генов снижается, а функционирование антиоксидантной системы синхронизируется, что может свидетельствовать об успешном противодействии распространению вируса. Контрольные растения, выращиваемые без добавления ЖК, характеризовались низким уровнем экспрессии генов *Chit*, *Glu* и *TLP*. При заражении ХВК в них резко возрастала экспрессия гена *HSR*, а также увеличивался уровень экспрессии гена *TLP*, что указывает на реализацию механизма защиты через гиперчувствительный ответ и на важную роль тауматин-подобного белка в защите растений картофеля от Х-вируса.

**Благодарности.** Работа финансирована в рамках Государственной программы Республики Беларусь «Наукоёмкие 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. Физиолого-биохимическая оптимизация минерального питания растений / Т. Г. Янчевская. – Б. м. : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. – 547 с.
2. 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>
3. 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.
4. 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>
5. 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>
6. Hormonal modulation of plant immunity / C. M. Pieterse [et al.] // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. – 2012. – Vol. 28, N 1. – P. 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
7. Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs / N. Denancé [et al.] // Front Plant Sci. – 2013. – Vol. 4. – Art. 155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00155>
8. Pieterse, C. M. J. Different shades of JAZ during plant growth and defense / C. M. J. Pieterse, R. Pierik, S. C. M. van Wees // New Phytol. – 2014. – Vol. 204, N 2. – P. 261–264. <https://doi.org/10.1111/nph.13029>
9. Vasyukova, N. I. Jasmonate-dependent defense signaling in plant tissues / N. I. Vasyukova, O. L. Ozeretskoyevskaya // Rus. J. Plant Physiol. – 2009. – Vol. 56, N 5. – P. 581–590. <https://doi.org/10.1134/S102144370905001X>
10. Salazar, L. F. Potato viruses and their control / L. F. Salazar. – Lima, Peru : Intern. Potato Center (CIP), 1996. – 214 p.
11. PR-белки как маркеры устойчивости озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к листовым патогенам / Е. В. Вязов [и др.] // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 3. – С. 286–291.
12. 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/erl280>
13. Инокуляция, накопление и идентификация вируса PVY картофеля в тест-растениях *Nicotiana tabacum* / В. Т. Хасанов [и др.] // Вестн. КГАУ им. С. Сейфуллина. – 2012. – № 4 (75). – С. 31–36.
14. Kozel, N. V. Barley leaf antioxidant system under photooxidative stress induced by Rose Bengal / N. V. Kozel, N. V. Shalygo // Rus. J. Plant Physiol. – 2009. – Vol. 56, N 3. – P. 316–322. <https://doi.org/10.1134/S1021443709030030>
15. 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. Meth. – 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)
16. 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>
17. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 272 с.
18. Mittler, R. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium / R. Mittler, B. A. Zilinskas // Anal. Biochem. – 1993. – Vol. 212, N 2. – P. 540–546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>

19. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone / M. Sanmartin [et al.] // *Planta*. – 2003. – Vol. 216. – P. 918–928. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0944-9>
20. Козел, Н. В. Фотоокислительные процессы, индуцированные в растениях ячменя и табака сенсбилизаторами кантеновой природы : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.02 / Н. В. Козел. – Минск, 2009. – 146 л.
21. Спектрофлуориметрический метод определения окисленного и восстановленного глутатиона в растениях / Н. В. Шалыго [и др.] // *Физиология и биохимия культурных растений*. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 264–270.
22. 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>
23. Технология ДНК-типирования генов устойчивости ячменя к засухе : метод. указания / сост. : И. Н. Доманская [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2011. – 31 с.
24. 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.
25. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика : учеб. пособие / П. Ф. Рокицкий. – Изд. 3-е, испр. – Минск : Выш. школа, 1973. – 318 с.
26. Артюхов, В. Г. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами / В. Г. Артюхов, М. А. Накваскина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2000. – 294 с.
27. Wasternack, C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development / C. Wasternack // *Ann. Bot.* – 2007. – Vol. 100, N 4. – P. 681–697. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm079>
28. Expression profiling of *Chondrus crispus* (Rhodophyta) after exposure to methyl jasmonate / J. Collén [et al.] // *J. Exp. Bot.* – 2006. – Vol. 57, N 14. – P. 3869–3881. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl171>
29. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes / R. W. M. Fung [et al.] // *J. Plant Physiol.* – Vol. 163, N 10. – P. 1049–1060. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.003>

## References

1. Yanchevskaya T. G. *Physiological and biochemical optimisation of mineral nutrition of plants*. S. 1., LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. 547 p. (in Russian).
2. 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>
3. 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).
4. 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>
5. 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>
6. Pieterse C. M., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A., Van Wees S. C. Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2012, vol. 28, no. 1, pp. 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
7. Denancé N., Sánchez-Vallet A., Goffner D., Molina A. Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Frontiers in Plant Science*, 2013, vol. 4, art. 155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00155>
8. Pieterse C. M. J., Pierik R., van Wees S. C. M. Different shades of JAZ during plant growth and defense. *New Phytologist*, 2014, vol. 204, no. 2, pp. 261–264. <https://doi.org/10.1111/nph.13029>
9. Vasyukova N. I., Ozeretskovskaya O. L. Jasmonate-dependent defense signaling in plant tissues. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2009, vol. 56, no. 5, pp. 581–590. <https://doi.org/10.1134/S102144370905001X>
10. Salazar L. F. *Potato viruses and their control*. Lima, Peru, Intern. Potato Center (CIP), 1996. 214 p.
11. Viazau Y. V., Radyuk M. S., Filipchik E. A., Shalygo N. V. PR-proteins as markers of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) resistance to leaf pathogens. *Vesti 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).
12. Lee B. R., Kim K. Y., Jung W. J., Avice 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>
13. 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 imeni S. Seifullina* [Science bulletin of S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University], 2012, no. 4 (75), pp. 31–36 (in Russian).
14. Kozel N. V., Shalygo N. V. Barley leaf antioxidant system under photooxidative stress induced by Rose Bengal. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2009, vol. 56, no. 3, pp. 316–322. <https://doi.org/10.1134/S1021443709030030>

15. 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)
16. 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>
17. Zaprometov M. N. *Phenolic compounds: distribution, metabolism and functions in plants*. Moscow, Nauka Publ., 1993. 272 p. (in Russian).
18. Mittler R., Zilinskas B. A. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium. *Analytical Biochemistry*, 1993, vol. 212, no. 2, pp. 540–546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>
19. Sanmartin M., Drogoudi P. A., Lyons T., Pateraki I., Barnes J., Kanellis A. K. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone. *Planta*, 2003, vol. 216, pp. 918–928. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0944-9>
20. Kozel N. V. *Photooxidative processes induced in barley and tobacco plants by xanthene photosensitizers*. Ph. D. Thesis. Minsk, 2009. 146 p.
21. Shalygo N. V., Shcherbakov R. A., Domanskaya I. N., Radyuk M. S. Spectrofluorometrical method of oxidized and reduced glutathione determination in plants. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rastenii = Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 2007, vol. 39, no. 3, pp. 264–270 (in Russian).
22. 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>
23. 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).
24. Pasalari Kh., 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).
25. Rokitskii P. F. *Biological statistics. 3rd ed.* Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 318 p. (in Russian).
26. Artyukhov V. G., Nakvaskina M. A. *Biological membranes: structural organization, functions, modification by physico-chemical agents*. Voronezh, Publishing House of Voronezh State University, 2000. 294 p. (in Russian).
27. Wasternack C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany*, 2007, vol. 100, no. 4, pp. 681–697. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm079>
28. Collén J., Hervé C., Guisle-Marsollier I., Léger J. J., Boyen C. Expression profiling of *Chondrus crispus* (Rhodophyta) after exposure to methyl jasmonate. *Journal of Experimental Botany*, 2006, vol. 57, no. 14, pp. 3869–3881. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl171>
29. Fung R. W. M., Wang C. Y., Smith D. L., Gross K. C., Tao Y., Tian M. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes. *Journal of Plant Physiology*, vol. 163, no. 10, pp. 1049–60. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.003>

## 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: [yauhen.viazau@gmail.com](mailto:yauhen.viazau@gmail.com)

*Каляга 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)

*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](mailto: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](mailto:olga.safonova.1995@mail.ru)

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

## 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: [yauhen.viazau@gmail.com](mailto:yauhen.viazau@gmail.com)

*Tatsiana G. Kaliha* – 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)

*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](mailto: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](mailto:olga.safonova.1995@mail.ru)

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

*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

*Рыбинская Екатерина Игоревна* – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kate.rybinskaya@gmail.com

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

*Янчевская Тамара Георгиевна* – канд. биол. наук. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t\_yanch@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

*Katsiarina I. Rybinskaya* – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kate.rybinskaya@gmail.com

*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

*Tamara G. Yanchevskaya* – Ph. D. (Biol.). 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: t\_yanch@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 615.451.16:615.322  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-402-411>

Поступила в редакцию 24.06.2020  
Received 24.06.2020

Н. Ю. Адамцевич<sup>1</sup>, В. С. Болтовский<sup>1</sup>, В. В. Титок<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

### ВЛИЯНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ НА ВЫХОД ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ВОРОБЕЙНИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.)

**Аннотация.** Воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale* L.) – ценное лекарственное растение, которое используется в народной медицине еще с давних времен в качестве мочегонного, слабительного, обезболивающего, противопрошудного и противовоспалительного средства. Одним из наиболее распространенных классов биологически активных веществ растительного происхождения являются флавоноиды. В листьях воробейника лекарственного содержится изокверцитрин – флавоноид, который обладает регенерирующим действием.

В данной работе приведены результаты изучения влияния параметров экстракции (концентрации этилового спирта, температуры, соотношения массы сырья к объему экстрагента, продолжительности, кратности) на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного. С помощью ортогонального центрального композиционного планирования получена зависимость, которая описывает влияние температуры и продолжительности процесса экстракции на эффективность извлечения флавоноидов из листьев воробейника лекарственного. Установлено, что максимальный выход целевых компонентов, который составляет более 2 %, достигается при следующих параметрах процесса экстракции: экстрагент – 50 %-ный этиловый спирт, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1:20, температура – 65–70 °С, продолжительность – 35–45 мин. Экстрагирование сырья достаточно проводить в режиме однократной экстракции.

**Ключевые слова:** *Lithospermum officinale* L., флавоноиды, изокверцитрин, экстракция, спектрофотометрия, оптимизация

**Для цитирования:** Адамцевич, Н. Ю. Влияние параметров экстракции на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) / Н. Ю. Адамцевич, В. С. Болтовский, В. В. Титок // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 402–411. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-402-411>

Natallia Yu. Adamtsevich<sup>1</sup>, Valeriy S. Boltovskiy<sup>1</sup>, Vladimir V. Titok<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

### THE INFLUENCE OF EXTRACTION PARAMETERS ON THE OUTPUT OF FLAVONOIDS FROM LITTLEWALE (*LITHOSPERMUM OFFICINALE* L.)

**Abstract.** Littlewale (*Lithospermum officinale* L.) is a valuable medicinal plant that has been used in folk medicine since ancient times as a diuretic, laxative, analgesic, anti-cold and anti-inflammatory agent. One of the most common classes of biologically active substances of plant origin are flavonoids. The leaves of the littlewale contain isoquercitrin, a flavonoid that has a regenerating effect.

This article presents the results of a study of the influence of extraction parameters (ethanol concentration, temperature, ratio of the mass of plant materials to the volume of extractant, duration, multiplicity) on the output of flavonoids from the leaves of the littlewale. Using the orthogonal central compositional planning, a dependence is obtained that describes the influence of temperature and the duration of the extraction process on the efficiency of extracting flavonoids from the leaves of the littlewale. It was found that the maximum yield of the target components, which is more than 2 %, is achieved with the following parameters of the extraction process: extractant – 50 % ethyl alcohol, the ratio of the mass of raw materials to the volume of extractant is 1:20, temperature – 65–70 °C, duration – 35–45 minutes. It is enough to conduct a single extraction of plant materials.

**Keywords:** *Lithospermum officinale* L., flavonoids, isoquercitrin, extraction, spectrophotometry, optimization

**For citation:** Adamtsevich N. Yu., Boltovskiy V. S., Titok V. V. The influence of extraction parameters on the output of flavonoids from littlewale (*Lithospermum officinale* L.). *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 402–411 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-402-411>

**Введение.** Лекарственное растительное сырье (ЛРС) является источником ценных биологически активных веществ (БАВ), которые широко применяются в медицине, а также в пищевой и парфюмерно-косметической промышленности.

Одним из наиболее распространенных классов БАВ растительного происхождения являются флавоноиды – фенольные соединения, молекулы которых состоят из двух бензольных колец, которые соединены трехуглеродной цепочкой ( $C_6-C_3-C_6$ ) и, как правило, представляет собой производные 2-фенилхромана (флавана) [1–7]. Флавоноиды вовлечены во множество важных процессов, связанных с прорастанием, ростом, опылением и размножением растений, участвуют в их пигментации [2, 4, 6, 7].

Изучению фармакологических свойств флавоноидов посвящено большое количество исследований. Доказано, что на их основе возможно создание новых лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантным [2, 8], противовоспалительным [9, 10], антиканцерогенным [11–13], антимикробным [14], ранозаживляющим [15–18], нейропротекторным [19, 20] и другим полезным действием.

Ценным лекарственным растением, которое использовалось человеком еще с давних времен, является воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale* L.) – вид двудольных растений семейства Бурачниковые (*Boraginaceae*). Это многолетнее травянистое растение, которое цветет в июне–июле. Стебли прямостоячие, жестко шероховатые, достигают высоты 30–80 см. Листья воробейника лекарственного ланцетовидные, шероховатые, сверху темно-зеленые, снизу более светлые; цветки мелкие, желтовато-белые, пятичленные, длиной 6–8 мм, собраны в пазухах верхушечных листьев; плоды белые орешкообразные [21].

Воробейник лекарственный встречается на большей части территории Европы (кроме севера), на Кавказе, Дальнем Востоке, в Западной и Восточной Сибири, Средней и Малой Азии, занесен в Северную Америку. В Республике Беларусь произрастает в изолированных локалитетах, на северной границе ареала по линии городов Береза–Кричев. Достоверно известен в Березовском, Дрогичинском, Кричевском, Лоевском, Мозырском и Хойникском районах [22].

Данное растение не является фармакопейным, однако в народной медицине достаточно часто используется в качестве мочегонного, слабительного, обезболивающего, противостудного и противовоспалительного средства [23]. В листьях воробейника лекарственного обнаружен флавоноид изокверцитрин [24], который, как известно, способствует регенерации тканей [16, 18]. Таким образом, воробейник лекарственный представляет интерес для медицинской практики.

При получении лекарственных форм на основе ЛРС одним из основных этапов является предварительное извлечение БАВ методом экстракции водой или органическими растворителями с целью перехода целевых компонентов из ЛРС в растворитель. Эффективность процесса извлечения БАВ из природного сырья зависит от выбора условий экстракции.

На скорость экстракции влияют как структура ЛРС, так и степень его измельчения. Наиболее часто для извлечения БАВ используют высушенный растительный материал. Чем больше степень измельчения материала, тем скорее протекает переход целевых компонентов в экстрагент. Однако из-за малого размера частиц они «слипаются», что ухудшает их контакт с растворителем. Кроме того, мелкие частицы затрудняют отделение жидкости, а это требует значительных энергетических затрат, что влияет на эффективность процесса экстрагирования [25]. Обычно для различного растительного материала рекомендуют следующую степень измельчения: листья, цветы, травы – до 3–5 мм; стебли, корни, кора – до 1–3; плоды и семена – до 0,3–0,5 мм.

Как правило, для выделения флавоноидов из ЛРС проводят экстракцию растительного материала этиловым, метиловым спиртом или водно-спиртовыми растворами [1, 4, 5].

При производстве фитопрепаратов в качестве экстрагента чаще используют этиловый спирт, который обладает такими преимуществами, как доступность и относительная дешевизна, бактериостатическое действие, инактивация ферментов. Водные растворы этилового спирта различной концентрации имеют разную полярность, что в свою очередь оказывает влияние на растворимость флавоноидов. Например, агликоны хорошо растворимы в спирте и мало растворимы в воде. Гликозиды же лучше растворяются в водно-спиртовых растворах, при этом чем больше углеводных остатков в молекуле, тем более активно идет процесс растворения данных соединений в воде.

Движущей силой процесса экстракции является разность концентраций. Экстрагирование БАВ, как правило, протекает до установления динамического равновесия в системе «растительное сырье – экстрагент». В связи с этим необходимо поддерживать максимальную разность концентраций извлекаемых веществ в ЛРС и растворителе, что требует проведения многократной экстракции.

Под действием температуры происходит более быстрое набухание растительного материала, что способствует разрушению клеток, инактивации ферментов, гибели микробиоты, а также снижению вязкости экстрагента, за счет чего увеличивается растворимость целевых компонентов. Однако повышение температуры не всегда целесообразно, так как может привести к разрушению либо окислению извлекаемых соединений и переходу большого количества балластных веществ, что затрудняет дальнейшую очистку и ухудшает качественный состав экстракта. Кроме того, увеличение длительности экстракции способствует переходу высокомолекулярных соединений в экстракт (флавоноиды имеют меньшую молекулярную массу по сравнению с высокомолекулярными соединениями, благодаря чему диффундируют быстрее). Поэтому с целью ускорения полного извлечения целевых компонентов при выборе продолжительности экстрагирования необходимо использовать все факторы, которые способствуют интенсификации процесса.

Цель работы – изучение влияния различных параметров процесса экстракции на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного и их оптимизация.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследования являлись высушенные листья воробейника лекарственного ( $w = 9,95\%$ ) первого года культивирования (сбор 2019 г. в фазу цветения). Растение культивировали на опытных участках Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Сырье измельчали до фракции 2–3 мм.

Для изучения влияния концентрации спирта, температуры, соотношения массы сырья к объему экстрагента, продолжительности процесса и кратности экстракции на степень извлечения флавоноидов из листьев воробейника лекарственного и определения оптимальных значений данных параметров проводили серии экспериментов с варьированием указанных факторов. При изучении влияния первого параметра (концентрации этилового спирта) экстракцию проводили по методике, приведенной в работе [26] для традиционной экстракции (температура – 65 °С, продолжительность – 30 мин, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1:30). В каждой последующей серии экстрагирование сырья проводили при оптимальном значении изучаемого параметра. В точках эксперимента выполняли по три параллельных опыта и использовали точную навеску сырья массой  $1 \pm 0,001$  г. Результаты представлены в виде среднего значения выборки, относительной ошибки ( $\epsilon$ ) и полуширины доверительного интервала.

Определение суммарного содержания флавоноидов в извлечениях проводили спектрофотометрическим методом, основанном на реакции комплексообразования флавоноидов с хлоридом алюминия. Для этого в колбу объемом 25 мл помещали 1 мл экстракта, добавляли 2 мл 2 %-ного раствора алюминия хлорида и 5 капель кислоты хлористоводородной разведенной. Объем раствора доводили до метки 96 %-ным этиловым спиртом и оставляли на 40 мин в темном месте. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре SPECORD 200 (Analytik Jena, Германия) при длине волны 411 нм и толщине слоя 10 мм (в контрольной пробе раствор алюминия хлорида был заменен 96 %-ным этиловым спиртом).

В качестве стандартного образца (СО) использовали рутин. Для приготовления раствора рутин в мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 0,05 г высушенного при температуре 130 °С рутин и растворяли его в 80 мл 96 %-ного этилового спирта при нагревании на водяной бане. Далее раствор охлаждали и доводили объем до 100 мл этим же растворителем. Затем измеряли оптическую плотность комплекса раствора рутин с хлоридом алюминия, приготовленного аналогично испытуемому раствору. Содержание суммы флавоноидов ( $X$ ) на абсолютно сухое сырье рассчитывали по формуле

$$X = \frac{A_3 \cdot m_0 \cdot P \cdot V_3 \cdot V'_3 \cdot V_{x0}}{A_0 \cdot m_c \cdot V_0 \cdot V'_0 \cdot V_{x3} \cdot (100 - W)} \cdot 100\%,$$

где  $A_3$  и  $A_0$  – оптическая плотность испытуемого раствора и раствора СО рутин соответственно;  $m_c$  и  $m_0$  – масса навески листьев воробейника лекарственного и СО рутин соответственно, г;  $V_3$  и  $V_0$  –

объем полученного экстракта и раствора рутина соответственно, мл;  $V'$  и  $V'_0$  – объем мерных колб при приготовлении испытуемого раствора и раствора СО рутина для анализа соответственно, мл;  $V_{x_3}$  и  $V_{x_0}$  – объем аликвоты экстракта и раствора СО рутина соответственно, мл;  $P$  – содержание рутина в СО, %;  $W$  – влажность растительного сырья, %.

С учетом полученных значений выхода флавоноидов в зависимости от различных параметров процесса экстракции и с целью определения оптимальных применяли статистический метод планирования эксперимента с использованием ортогонального композиционного плана второго порядка. В каждой точке плана проводили по три параллельных опыта.

Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Office Excel 2007.

**Результаты и их обсуждение.** Изучено влияние концентрации этилового спирта на выход флавоноидов из листьев воробейника лекарственного (табл. 1). Для экстракции применяли дистиллированную воду и 20–96 %-ный водный раствор этилового спирта.

Таблица 1. Влияние концентрации спирта на выход флавоноидов из листьев *Lithospermum officinale* L.

Table 1. Effect of alcohol concentration on the extraction of flavonoids from leaves of *Lithospermum officinale* L.

Концентрация спирта, %	Выход флавоноидов, %	$\varepsilon$ , %
0	0,54 ± 0,02	3,70
20	1,19 ± 0,04	3,36
40	1,57 ± 0,02	1,27
<b>50</b>	<b>1,73 ± 0,03</b>	1,73
<b>60</b>	<b>1,68 ± 0,04</b>	2,38
70	1,59 ± 0,04	2,52
96	0,84 ± 0,02	2,38

Из табл. 1 видно, что при экстрагировании листьев воробейника лекарственного 50–60 %-ным этиловым спиртом достигается наиболее высокий выход флавоноидов. Поэтому на следующих этапах исследования использовали концентрацию спирта 50 %.

При увеличении концентрации этилового спирта от 70 до 96 % выход флавоноидов снижался почти в 2 раза. Это можно объяснить тем, что большинство флавоноидов в листьях воробейника лекарственного содержатся в виде гликозидов, которые, в отличие от агликонов, лучше растворяются в водно-спиртовых растворах.

Результаты выхода флавоноидов при изменении температуры процесса приведены в табл. 2.

Таблица 2. Влияние температуры на выход флавоноидов из листьев *Lithospermum officinale* L.

Table 2. The effect of temperature on the extraction of flavonoids from leaves of *Lithospermum officinale* L.

Температура, °С	Выход флавоноидов, %	$\varepsilon$ , %
30	1,20 ± 0,02	1,67
40	1,55 ± 0,02	1,29
50	1,67 ± 0,04	2,39
60	1,72 ± 0,04	2,32
<b>70</b>	<b>1,81 ± 0,03</b>	1,66
80	1,59 ± 0,05	3,14
82,8 ( $T_{\text{кип}}$ )	1,45 ± 0,02	2,76

Экстракцию сырья на данном этапе проводили 50 %-ным этиловым спиртом в течение 30 мин, соотношение сырье:экстрагент составляло 1:30. Температуру изменяли от 30 °С до температуры кипения 50 %-ного этанола (82,8 °С).

С ростом температуры выход флавоноидов увеличивался и достигал максимума при 70 °С, после чего наблюдалось его снижение. Возможно, это связано с тем, что при высокой температуре некоторые гликозиды флавоноидов разрушаются, в результате чего образуются агликаны, которые слабо растворимы в 50 %-ном этиловом спирте, либо же данное снижение выхода флавоноидов связано с их окислением кислородом воздуха при повышенной температуре.

В табл. 3 представлены результаты изучения влияния соотношения массы растительного сырья к объему экстрагента. К одинаковой массе сырья добавляли рассчитанное количество экстрагента для получения заданных соотношений. Экстракцию проводили 50 %-ным этиловым спиртом в течение 30 мин при температуре 70 °С.

Из приведенных в табл. 3 данных видно, что наибольшее количество флавоноидов извлекалось при соотношении 1:20. Дальнейшее увеличение объема экстрагента было неэффективным и экономически невыгодным.

Т а б л и ц а 3. Влияние соотношения массы сырья к объему экстрагента на выход флавоноидов из листьев *Lithospermum officinale* L.

Table 3. The effect of the ratio of the mass of plant materials to the volume of extractant on the extraction of flavonoids from leaves of *Lithospermum officinale* L.

Соотношение сырье:экстрагент	Выход флавоноидов, %	$\epsilon$ , %
1:10	1,89 ± 0,05	2,65
<b>1:20</b>	<b>1,96 ± 0,05</b>	2,55
1:30	1,82 ± 0,06	3,30
1:50	1,70 ± 0,04	2,35

Результаты влияния продолжительности процесса экстракции на выход флавоноидов представлены в табл. 4.

Экстракцию проводили в течение 10–90 мин 50 %-ным этиловым спиртом при 70 °С. Соотношение сырье:экстрагент составляло 1:20.

С ростом продолжительности процесса экстракции от 10 до 30 мин наблюдалось увеличение выхода флавоноидов. Далее содержание целевых компонентов изменялось незначительно и постепенно снижалось.

Т а б л и ц а 4. Влияние продолжительности экстракции на выход флавоноидов из листьев *Lithospermum officinale* L.

Table 4. The effect of the duration of extraction on the extraction of flavonoids from the leaves of *Lithospermum officinale* L.

Продолжительность экстракции, мин	Выход флавоноидов, %	$\epsilon$ , %
10	1,76 ± 0,05	2,84
<b>30</b>	<b>1,94 ± 0,05</b>	2,58
<b>60</b>	<b>1,95 ± 0,05</b>	2,56
90	1,89 ± 0,04	2,12

С целью оптимизации процесса экстракции составлен ортогональный центральный композиционный план второго порядка.

На основании полученных результатов в качестве управляемых независимых переменных выбраны температура ( $X_1$ ) и продолжительность ( $X_2$ ). Уровни и интервалы варьирования факторов представлены в табл. 5. Экстракцию проводили 50 %-ным этиловым спиртом, соотношение массы сырья к объему экстрагента составляло 1:20.

Влияние параметров процесса на эффективность извлечения флавоноидов оценивали по их содержанию в полученных экстрактах ( $Y$ , %). Матрица планирования и результаты экспериментов приведены в табл. 6.

Т а б л и ц а 5. Уровни факторов и интервалы варьирования

Table 5. Factor Levels and Intervals

Уровень	Температура ( $X_1$ )		Продолжительность экстракции ( $X_2$ )	
	в натуральном выражении, °C	в кодированном выражении	в натуральном выражении, мин	в кодированном выражении
Нулевой	70	0	45	0
Верхний	80	1	60	1
Нижний	60	-1	30	-1
Интервал варьирования	5	1	15	1

Т а б л и ц а 6. Матрица планирования эксперимента и результаты опытов

Table 6. Experiment planning matrix and experiment results

№ опыта	$X_1$	$X_2$	$Y_{\text{эксп}}$ , %	$S^2_{\text{восп}}$	$\epsilon$ , %	$Y_{\text{расч}}$ , %
1	-1	-1	1,83	0,0006	3,41	1,82
2	1	-1	1,65	0,0006	3,78	1,65
3	-1	1	1,75	0,0004	2,84	1,73
4	1	1	1,63	0,0004	3,05	1,63
5	-1	0	1,90	0,0007	3,46	1,88
6	1	0	1,74	0,0004	2,85	1,75
7	0	-1	1,95	0,0005	2,94	1,97
8	0	1	1,91	0,0006	3,28	1,92
9	0	0	2,03	0,0004	2,54	2,06

В результате статистической обработки выведено уравнение регрессии в кодированном виде, которое позволяет описать зависимость выхода флавоноидов от температуры ( $X_1$ ) и продолжительности ( $X_2$ ) процесса экстракции:

$$Y = 2,051 - 0,077X_1 - 0,026X_2 + 0,015X_1X_2 - 0,211X_1^2 - 0,131X_2^2.$$

Полученные в результате эксперимента данные подвергали статистической обработке, с помощью которой осуществляли проверку значимости коэффициентов уравнения регрессии, оценку его адекватности и воспроизводимости опытов с использованием критериев Кохрена, Стьюдента и Фишера (табл. 7). При этом доверительная вероятность составляла 0,95.

Исходя из полученного уравнения регрессии, оптимальными следует считать параметры  $X_1 = -0,186$  (68,1 °C) и  $X_2 = -0,098$  (43,5 мин), которые обеспечивают получение экстракта с максимальным содержанием флавоноидов ( $Y = 2,06$  %).

Как видно из рисунка, при температуре 65–73 °C в течение 35–52 мин поверхность отклика проходит через максимум, соответствующий наибольшему выходу флавоноидов (>2 %). Дальнейшее увеличение температуры и продолжительности экстракции нецелесообразно вследствие негативного воздействия на целевые компоненты.

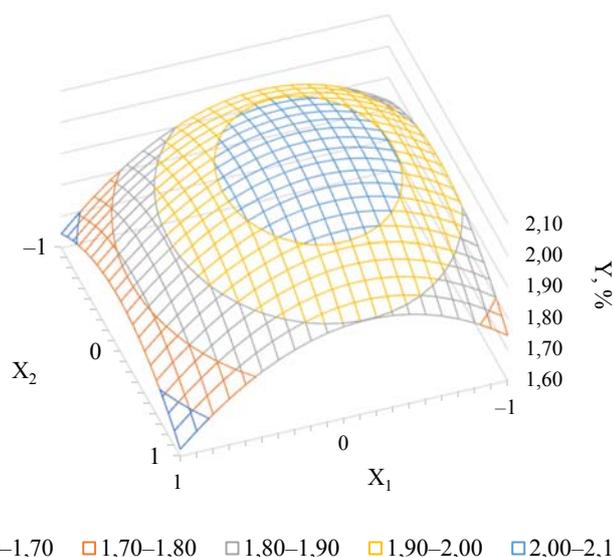
Т а б л и ц а 7. Статистический анализ экспериментальных данных

Table 7. Statistical analysis of experimental data

Показатель	Параметр	Значение
Проверка однородности дисперсий	Критерий Кохрена:	
	$G_{\text{эксп}}$ $G_{0,95}$	0,15 0,47
Проверка значимости коэффициентов уравнения регрессии	Дисперсия воспроизводимости ( $S^2$ )	0,00053
	Дисперсии коэффициентов регрессии:	
	$S_{b_0}$	0,0019
	$S_{b_1} = S_{b_2}$	0,0028
	$S_{b_{12}}$	0,0042
$S_{b_{11}} = S_{b_{22}}$	0,0084	
	Критерий Стьюдента ( $t_{0,95}$ )	2,10

Окончание табл. 7

Показатель	Параметр	Значение
	Значения $t$ -соотношения:	
	$t_0$	802,19
	$t_1$	19,99
	$t_2$	6,66
	$t_{12}$	2,61
	$t_{11}$	18,35
	$t_{22}$	11,36
Проверка адекватности уравнения	Дисперсия адекватности ( $S^2_{\text{адк}}$ )	0,00149
	Критерий Фишера:	
	$F_{\text{эксп}}$	2,81
	$F_{0,95}$	3,16



Поверхность отклика зависимости выхода флавоноидов от температуры ( $X_1$ ) и продолжительности ( $X_2$ ) процесса экстракции листьев *Lithospermum officinale* L.

The surface of the response of the dependence of the output of flavonoids on temperature ( $X_1$ ) and duration ( $X_2$ ) of the leaf extraction process of *Lithospermum officinale* L.

Графическая интерпретация полученной зависимости представлена на рисунке.

Таким образом, определены оптимальные параметры экстракции флавоноидов из воробейника лекарственного: экстрагент – 50 %-ный этиловый спирт, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1:20, температура – 65–70 °С, продолжительность – 35–45 мин.

Далее при данных условиях проводили одно-, двух- и трехкратную экстракцию. Результаты приведены в табл. 8.

При повторной экстракции выход целевых компонентом увеличивается незначительно, поэтому целесообразно проводить однократную экстракцию.

Т а б л и ц а 8. Влияние кратности на выход флавоноидов из листьев *Lithospermum officinale* L.

T a b l e 8. The effect of the multiplicity on the extraction of flavonoids from the leaves of *Lithospermum officinale* L.

Кратность экстракции	Выход флавоноидов, %	$\varepsilon$ , %
1	2,03 ± 0,03	1,48
2	2,05 ± 0,03	1,46
3	2,02 ± 0,03	1,49

**Заклученне.** Изучено влияние параметров экстракции (концентрации этилового спирта, температуры, соотношения массы сырья к объему экстрагента, продолжительности, кратности) на степень извлечения флавоноидов из листьев воробейника лекарственного и проведена оптимизация данного процесса. С помощью ортогонального центрально-композиционного планирования получена зависимость, которая описывает влияние температуры и продолжительности процесса экстракции на эффективность извлечения флавоноидов из листьев воробейника лекарственного. Установлено, что максимальный выход целевых компонентов, который составляет более 2 %, достигается при следующих параметрах процесса экстракции: экстрагент – 50 %-ный этиловый спирт, соотношение массы сырья к объему экстрагента – 1:20, температура – 65–70 °С, продолжительность – 35–45 мин. Экстрагирование исследуемого сырья достаточно проводить в режиме однократной экстракции.

### Список использованных источников

1. Куркина, А. В. Флавоноиды фармакопейных растений / А. В. Куркина. – Самара : ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
2. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский [и др.]. – Пушкино : Synchrobook, 2013. – 310 с.
3. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин [и др.]. – Новосибирск : Гео, 2008. – 232 с.
4. Grotewold, E. The science of flavonoids / E. Grotewold. – New York : Springer, 2006. – 273 p.
5. Brown, J. E. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications / J. E. Brown, M. Andersen K. R. Markham. – Boca Raton : CRC Press, 2006. – 1197 p.
6. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Особенности и проблемы фармакокинетики / Я. Ф. Зверев // Обзоры по клинической и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 4–11.
7. Макаренко, О. А. Физиологические функции флавоноидов в растениях / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45, № 2. – С. 100–112.
8. Алексашина, С. А. Сравнительное изучение антиоксидантной активности фенольных соединений и флавоноидов цветков липы сердцевидной (*Tilia cordata* Mill.), шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), донника лекарственного (*Melilotus officinalis* L.), листьев смородины (*Ribes nigrum* folia), земляники лесной (*Fragaria vesca* L.), винограда (*Vitis labrusca*), произрастающих в Самарском регионе / С. А. Алексашина, Н. В. Макарова // Химия раст. сырья. – 2019. – № 3. – С. 153–159.
9. Азарова, О. В. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О. В. Азарова, Л. П. Галактионова // Химия раст. сырья. – 2012. – № 4. – С. 61–78.
10. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents : a review / Rathee P [et al.] // Inflammation and Allergy – Drug Targets. – 2009. – Vol. 8, N 3. – P. 229–235. <https://doi.org/10.2174/187152809788681029>
11. Механизмы антиканцерогенного действия флавоноидов / Г. А. Белицкий [и др.] // Успехи молек. онкологии. – 2014. – Т. 1, № 1. – С. 56–68.
12. Batra, P. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives / P. Batra, A. K. Sharma // 3 Biotech. – 2013. – Vol. 3, N 6. – P. 439–459. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0117-5>
13. Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin / G. M. Seelinger [et al.] // Molecules. – 2008. – Vol. 13, N 10. – P. 2628–2651. <https://doi.org/10.3390/molecules13102628>
14. Cushnie, T. P. Antimicrobial activity of flavonoids / T. P. Cushnie, A. J. Lamb // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2005. – Vol. 26, N 5. – P. 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
15. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats / N. Bhatia [et al.] // J. Phytopharmacol. – 2014. – Vol. 3, N 6. – P. 378–383.
16. Evaluation of the wound healing potential of isoquercetin-based cream on scald burn injury in rats / N. Bhatia [et al.] // Burns and Trauma. – 2016. – Vol. 4. <https://doi.org/10.1186/s41038-016-0032-1>
17. Effects and mechanisms of total flavonoids from *Blumea balsamifera* (L.) DC. on skin wound in rats / Y. Pang [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, N 12. – P. 2766–2778. <https://doi.org/10.3390/IJMS18122766>
18. Stimulation of neuroregeneration by flavonoid glycosides [Electronic resource]. – Mode of access: [www.google.com/patents/US20120087980](http://www.google.com/patents/US20120087980). – Date of access: 07.05.2020.
19. Polyphenols in Alzheimer's disease and in the gut-brain axis / V. P. Reddy [et al.] // Microorganisms. – 2020. – N 8, N 2. – P. 199–212. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020199>
20. Vitexin improves neuron apoptosis and memory impairment induced by isoflurane via regulation of miR-409 expression / Y. Qi [et al.] // Adv. Clin. Exp. Med. – 2020. – Vol. 29, N 1. – P. 135–145. <https://doi.org/10.17219/acem/104556>
21. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 3: Покрывосемянные (двудольные: раздельнолепестные) / И. А. Губанов [и др.]. – М. : Т-во науч. изданий КМК, Ин-т технол. исслед., 2004. – 520 с.
22. Воробейник лекарственный [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.cbq.org.by/ecotrail/kollekciya-redkikh-i-ischezayuschikh-vidov-prirodnoy-flory-belarusi/vorobeynik>. – Дата доступа: 14.05.2020.
23. Baczyńska, B. Application of *Lithospermum officinale* L. in early bronze age medicine / B. Baczyńska, M. Lityńska-Zajac // Veget. History Archaeobot. – 2005. – Vol. 14, N 1. – P. 77–80. <https://doi.org/10.1007/s00334-004-0054-7>

24. Условия экстракции и идентификации флавоноидов, стимулирующих регенерацию тканей / Е. В. Феськова [и др.] // Тр. БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. – 2019. – № 1. – С. 49–53.

25. Струпан, Е. А. Технология получения экстрактов из дикорастущего растительного сырья, широко применяемого в пищевой промышленности и фитотерапии / Е. А. Струпан, В. С. Колодязная, О. А. Струпан // Вестн. Краснояр. гос. аграр. ун-та. – 2012. – № 8. – С. 199–205.

26. Адамцевич, Н. Ю. Извлечение флавоноидов из воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale* L.) и цмина песчаного (*Helichrysum arenarium* L.) / Н. Ю. Адамцевич, Е. В. Феськова, В. С. Болтовский // Тр. БГТУ. Сер. 2. Химические технологии, биотехнологии, геоэкология. – 2020. – № 1. – С. 93–97.

## References

1. Kurkina A. V. *Flavonoids of pharmacopeia plants: monograph*. Samara, Samara State Medical University, 2012. 232 p. (in Russian).
2. Tarakhovskii Yu. S., Kim Yu. A., Abdrasilov B. S., Muzafarov E. N. *Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine*. Pushchino, Synchronobook, 2013. 310 p. (in Russian).
3. Korul'kin D. Yu., Abilov J. A., Muzychkina R. A., Tolstikov G. A. *Natural flavonoids*. Novosibirsk, Geo Publ., 2007. 232 p. (in Russian).
4. Grotewold E. *The science of flavonoids*. New York, Springer, 2006. 273 p.
5. Brown J. E., Andersen M., Markham K. R. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. Boca Raton : CRC Press, 2006. 1197 p.
6. Zverev Ya. F. Flavonoids through the eyes of a pharmacologist. Features and problems of pharmacokinetics. *Obzory po klinicheskoi i lekarstvennoi terapii* [Reviews of clinical and drug therapy], 2017, vol. 15, no. 2, pp. 4–11 (in Russian).
7. Makarenko O. A., Levitskii A. P. Physiological functions of flavonoids in plants. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii* [Physiology and biochemistry of cultivated plants], 2013, vol. 45, no. 2, pp. 100–112 (in Russian).
8. Aleksashina S. A., Makarova N. V. Comparative study of the antioxidant activity of phenolic compounds and flavonoids of tillet flowers (*Tilia cordata* Mill.), garden sage (*Salvia officinalis* L.), common melilot (*Melilotus officinalis* L.), currant leaves (*Ribes nigrum folia*), European strawberries (*Fragaria vesca* L.), grapes (*Vitis labrusca*), growing in the Samara region. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant materials], 2019, no. 3, pp. 153–159 (in Russian).
9. Azarova O. V., Galaktionova L. P. Flavonoids: a mechanism of anti-inflammatory action. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant materials], 2012, no. 4, pp. 61–78 (in Russian).
10. Rathee P., Chaudhary H., Rathee S., Rathee D., Kumar V., Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents : a review. *Inflammation and Allergy – Drug Targets*, 2009, vol. 8, no. 3, pp. 229–235. <https://doi.org/10.2174/187152809788681029>
11. Belitskii G. A., Kirsanov K. I., Lesovaya E. A., Yakubovskaya M. G. The mechanisms of the anticancerogenic effect of flavonoids. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* [Advances in molecular oncology], 2014, vol. 1, no. 1, pp. 56–68 (in Russian).
12. Batra P., Sharma A. K. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech*, 2013, vol. 3, no. 6, pp. 439–459. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0117-5>
13. Seelinger G., Merfort I., Wölfl U., Schempp C. M. Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules*, 2008, vol. 13, no. 10, pp. 2628–2651. <https://doi.org/10.3390/molecules13102628>
14. Cushnie T. P., Lamb A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, vol. 26, no. 5, pp. 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
15. Bhatia N., Singh A., Sharma R., Singh A., Soni V., Singh G., Bajaj J., Dhawan R., Singh B. Evaluation of burn wound healing potential of aqueous extract of *Morus alba* based cream in rats. *Journal of Phytopharmacology*, 2014, vol. 3, no. 6, pp. 378–383.
16. Bhatia N., Kaur G., Soni V., Kataria J., Dhawan R. K. Evaluation of the wound healing potential of isoquercetin-based cream on scald burn injury in rats. *Burns and Trauma*, 2016, vol. 4, p. 8. <https://doi.org/10.1186/s41038-016-0032-1>
17. Pang Y., Zhang Y., Huang L., Xu L., Wang K., Wang D., Guan L., Zhang Y., Fulai Yu., Chen Z., Xie X. Effects and mechanisms of total flavonoids from *Blumea balsamifera* (L.) DC. on skin wound in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, vol. 18, no. 12, pp. 2766–2778. <https://doi.org/10.3390/IJMS18122766>
18. Stimulation of neuroregeneration by flavonoid glycosides. Available at: [www.google.com/patents/US20120087980](http://www.google.com/patents/US20120087980) (accessed 07.05.2020).
19. Reddy V. P., Aryal P., Robinson S., Rafiq R., Obrenovich M., Perry G. Polyphenols in Alzheimer's disease and in the Gut–Brain Axis. *Microorganisms*, 2020, vol. 8, no. 2, pp. 199–212. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020199>
20. Qi Y., Chen L., Shan S., Nie Y., Wang Y. Vitexin improves neuron apoptosis and memory impairment induced by isoflurane via regulation of miR-409 expression. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2020, vol. 29, no. 1, pp. 135–145. <https://doi.org/10.17219/acem/104556>
21. Gubanov I. A., Kiseleva K. V., Novikov V. S., Tikhomirov V. N. *Illustrated identifier of plants in Central Russia. Vol. 3: Angiosperms (dicotyledonous)*. Moscow, Creativity of scientific publications of KMK, Institute for Technological Research, 2004. 520 p. (in Russian).
22. *Sparrow medicinal (Littlewale)*. Available at: <http://www.cbq.org.by/ecotrail/kollekciya-redkikh-i-ischeyayuschikh-vidov-prirodnoy-flory-belarusi/vorobeynik> (accessed 14.05.2020).
23. Baczyńska B., Lityńska-Zajac M. Application of *Lithospermum officinale* L. in early bronze age medicine. *Vegetation History and Archaeobotany*, 2005, vol. 14, no. 1, pp. 77–80. <https://doi.org/10.1007/s00334-004-0054-7>

24. Fes'kova E. V., Leont'ev V. N., Ignatovets O. S., Adamtsevich N. Yu., Besarab A. Yu. Extraction conditions and identification of flavonoids which stimulate tissue regeneration. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya 2: Khimicheskie tekhnologii, biotekhnologiya, geoekologiya* [Proceedings of the Belarusian State Technological University. Series 2. Chemical engineering, biotechnologies, geoecology], 2019, no. 1, pp. 49–53 (in Russian).

25. Strupan E. A., Kolodyaznaya V. S., Strupan O. A. The technology of extracts from wild plant materials, widely used in the food industry and herbal medicine. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of Krasnoyarsk State Agrarian University], 2012, no. 8, pp. 199–205 (in Russian).

26. Adamtsevich N. Yu., Fes'kova E. V., Boltovskii V. S. Extraction of flavonoids from littlewale (*Lithospermum officinale* L.) and everlasting (*Helichrysum arenarium* L.). *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya 2: Khimicheskie tekhnologii, biotekhnologiya, geoekologiya* [Proceedings of the Belarusian State Technological University. Series 2. Chemical engineering, biotechnologies, geoecology], 2020, no. 1, pp. 93–97 (in Russian).

### Информация об авторах

*Адамцевич Наталья Юрьевна* – аспирант. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natallia.adamtsevich@mail.ru

*Болтовский Валерий Станиславович* – д-р техн. наук, доцент, профессор. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: v-boltovsky@mail.ru

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

### Information about the authors

*Natallia Yu. Adamtsevich* – Postgraduate student. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natallia.adamtsevich@mail.ru

*Valeriy S. Boltovskiy* – D. Sc. (Engineering), Assistant Professor, Professor. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v-boltovsky@mail.ru

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

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 599.4 (476)  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-412-420>

Поступила в редакцию 22.04.2020  
Received 22.04.2020

Е. В. Годлевская<sup>1</sup>, А. В. Шпак<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины, Киев, Украина

<sup>2</sup>Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь

## РУКОКРЫЛЫЕ В КОЛЛЕКЦИИ ЗООЛОГИЧЕСКОГО МУЗЕЯ БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

**Аннотация.** В работе приведены результаты инвентаризации коллекции рукокрылых Зоологического музея БГУ (Минск) – одного из крупнейших естественно-исторических музеев Беларуси. Коллекция включает 226 экземпляров, собранных в 1924–2006 гг. преимущественно на территории Беларуси (все шесть административных областей). В коллекции представлены гладконосые рукокрылые: *Barbastella barbastellus*, *Eptesicus nilssonii*, *E. serotinus*, *Myotis daubentoni*, *Myotis* ex gr. “*mystacinus*”-*brandtii*, *Nyctalus lasiopterus*, *N. leisleri*, *N. noctula*, *Pipistrellus kuhlii*, *P. nathusii*, *P. pipistrellus* s. l., *Plecotus auritus*, *Vespertilio murinus*, а также один вид крылановых – *Rousettus aegyptiacus*. Этикеточные данные оцифрованы и систематизированы. Составлен и передан в музей электронный каталог. Показана научная и историческая ценность коллекции.

**Ключевые слова:** рукокрылые, фауна, Беларусь, музейные коллекции

**Для цитирования:** Годлевская, Е. В. Рукокрылые в коллекции Зоологического музея Белорусского государственного университета / Е. В. Годлевская, А. В. Шпак // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 412–420. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-412-420>

Lena V. Godlevska<sup>1</sup>, Aliaksei V. Shpak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Schmalhausen Institute of Zoology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

## BATS IN THE COLLECTION OF THE ZOOLOGICAL MUSEUM OF BELARUSIAN STATE UNIVERSITY

**Abstract.** The results of the examination of bat collection of the Zoological Museum of Belarusian State University, Minsk, one of the largest natural history museums in Belarus are presented. The collection contains 226 specimens, collected in 1924–2006, mainly in Belarus (in all administrative regions). In the collection there are specimens of Vespertilionidae: *Barbastella barbastellus*, *Eptesicus nilssonii*, *E. serotinus*, *Myotis daubentoni*, *Myotis* ex gr. “*mystacinus*”-*brandtii*, *Nyctalus lasiopterus*, *N. leisleri*, *N. noctula*, *Pipistrellus kuhlii*, *P. nathusii*, *P. pipistrellus* s. l., *Plecotus auritus*, *Vespertilio murinus*; and as well one species of Pteropodidae: *Rousettus aegyptiacus*. Voucher data were digitized and systematized. The electronic catalog was compiled and conveyed to the Museum. The scientific and historical value of the collection is shown.

**Keywords:** bats, fauna, Belarus, museum collections

**For citation:** Godlevska L. V., Shpak A. V. Bats in the collection of the Zoological museum of Belarusian State University. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 412–420 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-412-420>

**Введение.** Зоологические музеи являются важнейшими исследовательскими центрами, имеющими не только образовательные, но и научные функции. Коллекционный материал музеев, собранный в течение десятков и даже сотен лет, способен обеспечить широкий спектр исследований – от ретроспективного изучения фауны, молекулярно-генетических исследований до изучения истории науки страны, определения событий и фигур зоологических исследований в том или ином регионе [1–3]. Кроме того, коллекции позволяют верифицировать или уточнить надежность сведений, приводимых в печатных источниках. Нередко подробные исходные данные по регистрации видов исследователи по тем или иным причинам опускают или представляют в обобщенном виде. Однако именно эти данные составляют фактологическую базу для анализа,

заклучений, пересмотра или дополнения имеющихся выводов [4]. При этом эти данные важны как на региональном, так и на более высоких уровнях. В то же время использование первичных данных может быть значительно затруднено или вовсе невозможно по ряду причин. Например, данные могут быть утеряны, а в случае с музейными коллекциями – доступны исследователям только «на месте». Все это определяет необходимость максимально подробной каталогизации коллекционных экземпляров, а также обнародования детализированных каталогов коллекций.

Рукокрылые являются недостаточно изученной группой фауны Беларуси. В настоящее время список фауны Беларуси включает 19 видов [5]; данные по их статусу и распространению требуют уточнения. Любые сведения об этих животных представляют интерес и позволяют дополнить имеющуюся информацию, в том числе в контексте мониторинговых наблюдений, оценки возможных изменений статуса видов и т. д.

Зоологический музей биологического факультета Белорусского государственного университета (БГУ) – один из крупнейших естественно-исторических музеев Беларуси. История музея ведет отсчет с 1921 г., когда профессор А. В. Федюшин организовал кафедру зоологии БГУ и зоокабинет при ней [6]. На сегодня фондовые коллекции насчитывают около 168,5 тыс. единиц хранения [7]. За годы существования музея в нем была сформирована коллекция рукокрылых, описание которой в литературе представлено только видовым списком [7].

Цель работы – детальная инвентаризация коллекции рукокрылых.

**Материалы и методы исследования.** Все экземпляры коллекции рукокрылых были просмотрены с целью верификации видовой диагностики. Этикеточные данные были оцифрованы и систематизированы. По результатам работы составлен и передан в музей авторский электронный каталог.

В перечнях экземпляров ниже места сбора материала указаны в соответствии с современным административно-территориальным делением. Географическое позиционирование мест сбора произведено по ближайшему населенному пункту. В случаях, если населенный пункт в информации об экземпляре отсутствовал, был переименован или прекратил свое существование, авторы приводят наиболее вероятный существующий населенный пункт (в квадратных скобках). Например, для экземпляров с этикетками «Беловежская пуца, управление заповедника» авторами определен населенный пункт – [аг. Каменюки]: там находилось и находится управление заповедника (ныне национального парка) «Беловежская пуца». В некоторых случаях данные по месту сбора материала и сборщикам восстановлены по соответствующим публикациям [8, 9]. Все восстановленные сведения даны в квадратных скобках.

На момент просмотра коллекции единая нумерация экземпляров отсутствовала, поэтому в списках, приведенных ниже, номера опущены.

В пределах каждого вида перечень экземпляров сортирован по административно-территориальной привязке (страна, область, район, ближайший населенный пункт – в алфавитном порядке). Запись по каждому экземпляру или экземплярам организована следующим образом: место сбора, пол, дата, сборщик. Даты приведены в формате: день, месяц, год. Исползованные сокращения: F – самка, M – самец, U – пол неизвестен, juv – ювенильная особь, p-n – район, ad – взрослая особь, аг. – агрогородок, г. – город, г. п. – городской поселок, д. – деревня, х. – хутор, ок. – окрестности, кв. – квартал (леса), лес-во – лесничество, Беловеж. пуца – Беловежская пуца. В перечнях приведены только фамилии коллекторов.

**Результаты и их обсуждение.** Объем фондовой коллекции рукокрылых (по состоянию на октябрь 2017 г.) – 216 экземпляров, представленных шкурками сухого хранения, часть из которых сопровождается черепами. Еще 10 экземпляров представлено в экспозиции музея. Всего в коллекции представлено не менее 13 видов гладконосых летучих мышей современной фауны и 1 вид крылановых.

Подавляющая часть коллекционных экземпляров собрана на территории Беларуси (рис. 1). Также в коллекции присутствуют экземпляры, добытые в Азербайджане (5 экз.) и на современной территории Польши (1 экз.).

Хронологические рамки пополнения коллекции охватывают период с 1924 по 2006 г.

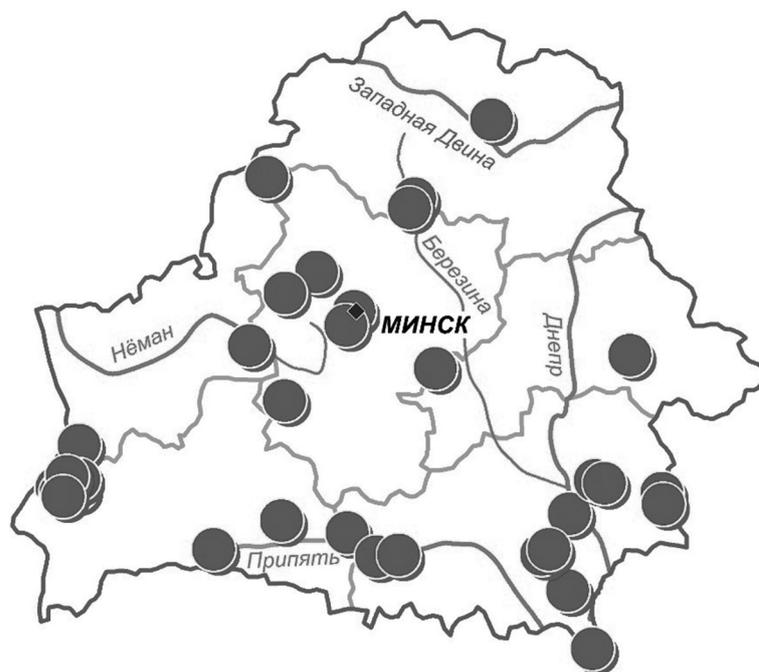


Рис. 1. Пункты сбора коллекционных экземпляров на территории Беларуси

Fig. 1. Collection localities of specimens at the territory of Belarus

В наполнении фондовой коллекции принимали участие коллекторы А. В. Балаш, В. В. Гричик, И. И. Данилюк, В. А. Дацкевич, А. Н. Курсков, [И. В.] Меркушова, А. Д. Писаненко, П. П. Прибыщук, И. Н. Сержанин, В. В. Слесаревич, А. В. Федюшин и экспедиция А. В. Федюшина. Кроме того, в экспозиции находятся чучела рукокрылых, добытых В. Л. Бибиковым, В. М. Коренчуком и Л. П. Шклярным; экземпляры *R. aegyptiacus* переданы в дар Минским зоопарком.

Ниже приводим полный список экземпляров коллекции.

***Myotis daubentonii* (Kuhl, 1817) – ночница водяная.** 13 экземпляров из Беловежской пуши, 12 из них добыты в разные даты в пойме р. Лесная.

**Брестская область. Каменецкий р-н:** • д. [Ляцкие, ок.], Беловеж. пуца, Королево-Мостовское лес-во, пойма р. Лесная – 7М, 5F, 24 и 25.05.1956; 06, 22 и 27.07.1956; 08 и 24.08.1956; 24.06.1957; 03.08.1957, 07 и 09.10.1957, leg. Курсков.

**? область.** • Беловеж. пуца – 1М, 09.08.1956, leg. Курсков.

***Myotis ex gr. "mystacinus"-brandtii.*** 8 экземпляров из Беловежской пуши.

**Примечание.** На момент коллектирования группу видов усатых ночниц европейской фауны рассматривали в качестве одного вида – *Myotis mystacinus* (Kuhl, 1817). Присутствие *Myotis brandtii* (Eversmann, 1845) – одного из видов группы усатых ночниц – на территории Беларуси, в том числе в Беловежской пуце, подтверждено как путем ревизии коллекционных экземпляров [10], так и в ходе натурных исследований недавнего времени [11–13]. Присутствие *M. mystacinus* s. s. в списке фауны Беларуси на сегодня основано на заключениях ревизии П. П. Стрелкова [10], который идентифицировал этот вид среди коллекционных экземпляров ночниц из Беловежской пуши, а также на упоминании вида М. Г. и В. Т. Демянчиками [14], но без детализации данных. К сожалению, определить видовую принадлежность экземпляров этой группы, хранящихся в коллекции БГУ, по морфологическим признакам невозможно (7 экземпляров представлены только шкурками, 1 – ювенильной особью с несформированной зубной системой).

**Брестская область. Пружанский р-н:** • х. [Перерово, ок.], Беловеж. пуца, Никорское лес-во – ур. Переров, за ставней, 1М, 15(13?).06.1957, leg. Курсков; • д. Подбельские Огородники, Беловеж. пуца – за ставней, 1М, 11.05.1958, leg. Курсков; • д. [Ясень], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – за шалевкой клуба, 2М, 2F, 28.07.1956, leg. Курсков; *ibid* – за ставней окна, 1F, 04.08.1956, leg. Курсков; *ibid* – за ставней окна конторы, 1F, 19.05.1957, leg. Курсков.

*Plecotus auritus* (Linnaeus, 1758) – ушан бурый. 6 экзemplяров из Беларусі.

**Брестская область.** *Пружанский р-н:* • д. [Хвойник, ок.], Беловеж. пуца, Хвойникоўское лес-во – кв. 507 «А», дуплянка 1734, 3Fad, 13.06.1957, leg. Курсков; • д. [Ясень, ок.], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – 1М, 24.09.1956, leg. Курсков.

**Минская область.** *Мядельский р-н:* • д. Константиново – 1Mad, 09.04.1985, leg. Гричик.

? область. • Беловеж. пуца – 1М, 20.08.1958, leg. Курсков.

*Barbastella barbastellus* (Schreber, 1774) – широкоушка европейская. 6 экзemplяров из Беловежской пуци.

**Брестская область.** *Каменецкий р-н:* • д. [Ляцкие, ок.], Беловеж. пуца, Королево-Мостовское лес-во, пойма р. Лесной – 1F, 24.05.1956, leg. Курсков; • д. Подбельские Огородники, Беловеж. пуца – 1М, 11.05.1958, leg. Курсков. *Пружанский р-н:* • х. [Перерово, ок.], Беловеж. пуца, Никорское лес-во – кордон Переров, за ставней, 1Fad, 10.08.1958, leg. Курсков; *ibid* – кв. 529, возле казармы погран. заставы, 1F, 07.06.1957, leg. Курсков; • д. [Ясень, ок.], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – за ставней окна, 1М, 09.04.1957, leg. Курсков.

**Гродненская область.** *Свислочский р-н:* • д. [Жарковщина, ок.], Беловеж. пуца, Свислочское лес-во – за окном, 1М, 23.04.1957, leg. Курсков.

*Nyctalus leisleri* (Kuhl, 1817) – вечерница малая. 5 экзemplяров с территории Гомельской области.

**Гомельская область.** *Буда-Кошелевский р-н:* • г. п. Уваровичи, ок. – 2Fad, 07.08.1933, leg. [Сержанин]. *Рогачевский р-н:* • д. [Озераны], Озеранское лес-во – 1Fad, 08.07.1930, leg. [Федюшин?]. *Хойникский р-н:* • аг. [Великий Бор], Великоборское лес-во – 2Fad, 09.06 и 30.07.1930, leg. [Федюшин?].

*Nyctalus noctula* (Schreber, 1774) – вечерница рыжая. Вид в фондовой коллекции представлен наибольшим количеством экзemplяров (всего 92) из разных пунктов всех шести областей Беларусі.

**Брестская область.** *Каменецкий р-н:* • аг. [Каменюки], Беловеж. пуца, управление заповедника – в дуплянке, 3U, 3Ujuv, 14.07.1956, leg. И. Данилюк. • д. [Ляцкие, ок.], Беловежская пуца, Королево-Мостовское лес-во – пойма р. Лесной, 1F, 03.08.1957, leg. Курсков; *ibid* – кв. 681, зубропитомник, 1Fjuv, 03.08.1957, leg. Курсков. *Лунинецкий р-н:* • аг. Лунин – кладб.? в старом улье, 1F, 18.05.1951, leg. ?; • г. [Микашевичи] = «Брестская обл., Ленинский р-н, окр. Дубенская» – в дупле дуба, 1F, 15.06.1952, leg. Меркушова. *Пинский р-н:* • д. Дубое – парк, под крышей костела, 1Mjuv, 1Fjuv, 09.08.1970, leg. Курсков. *Пружанский р-н:* • х. [Перерово, ок.], Беловеж. пуца, Никорское лес-во – ур. Переров, 1М, 12.05.1958, leg. Курсков; • д. Ясень, ок., Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – в разных пунктах; 4F, 06, 12.07.1956; 1F, 1F-preg, 25.06.1957; 1Mjuv, 1F-terg, 1Fjuv, 01 и 21.07.1957; 1М, 03.08.1957, leg. Курсков.

**Витебская область.** *Лепельский р-н:* • д. Переходцы – 2F, 8 и 27.07.1949, leg. Слесаревич.

**Гомельская область.** *Брагинский р-н:* • г. [Брагин], Октябрьское лес-во – 2Fad, 1F, 02, 04, 10.08.1930, leg. ?. • д. Верхние Жары – 2F, 16.08.1925, leg. экспедиция А. В. Федюшина.

*Буда-Кошелевский р-н:* • д. [Пуца] = «Саўгас «Пушча» Уваравіч. раёну» – 1U, 06.08.1933, leg. [Сержанин?]; • г. п. Уваровичи – 03.09.1933, leg. Сержанин. *Добрушский р-н:* • д. Вылево – 1М, 1F, 1U, 17.07.1929, leg. ?; • п. Закопытье – 1F, 14.07.1958, leg. Курсков. *Речицкий р-н:* • д. Деражня – 1Mad, 3Mjuv, 1Fad, 2Fjuv, 1F, 1Ujuv, 03.07, 04 и 09.08.1930, leg. Сержанин. *Рогачевский р-н:* • д. [Озераны], Озеранское лес-во – 3Mjuv, 3F, 4Fjuv, 1Ujuv, 02, 03.07.1926, 03.07.1930, leg. Федюшин. *Хойникский р-н:* • аг. [Великий Бор], Великоборское лес-во – 1М, 1Fad, 6F, 1U, 08, 09, 11.06 и 13.07.1930, leg. Федюшин; • п. [Хвойная Поляна] = «ст. Авраамовская Полесской обл.» – 1U, 06.07.1949, leg. ?.

**Гродненская область.** *Новогрудский р-н:* • д. Понемонь, ок., Щорсовское лес-во – в дупле дуба, 8F, 12.05.1984, leg. П. Прибышук.

**Минская область.** *Воложинский р-н:* • аг. [Першай] = «д. Романы, р. Першай, [Вяловский] Гос. запов[едник]» – 2Fjuv, 1U, 2Ujuv, 27.06.1946, leg. [Сержанин?]. *Минский р-н:* • аг. Прилуки – 2Fad, 1Fjuv, 1F, 14.06.1969, 1Mad, 24.06.1970, leg. Курсков. *Несвижский р-н:* • г. Несвиж, парк – 2Fad, 12.07.1969, leg. Курсков.

**Могилевская область.** *Осиповичский р-н:* • аг. Жорновка – 1Мjuv, 20.07.1958, leg. Курсков. *Славгородский р-н:* • аг. Гиженка – 4F, 2U (из большой колонии в дубовом дупле), 15.06.1925, leg. экспедиция А. В. Федюшина (1F – в экспозиции).

***Nyctalus lasiopterus* (Schreber, 1780) – вечерница гигантская.** Один декапитированный экземпляр. Очевидно, является экземпляром, добытым И. Н. Сержаниным в 1930 г. [8]. Эта регистрация являлась до недавнего времени единственной находкой вида в Беларуси (в 2015 г. на юге-западе Гомельской области выявлена колония гигантских вечерниц [15]).

**Гомельская область.** *Брагинский р-н:* • г. [Брагин], = «Октябрьское лес-во, Гомельский окр.» – 1М, 03.08.1930, leg. [Сержанин].

***Pipistrellus kuhlii* (Kuhl, 1817) – нетопырь средиземноморский.** 5 экземпляров из Азербайджана.

**Азербайджан.** *Ленкоранский р-н.* • Кызыл-Агачский заповедник, пост у аварийного канала – под шиферной крышей, 1Mad, 4Fad, 07.05.1986, leg. П. Прибыщук.

***Pipistrellus nathusii* (Keyserling & Blasius, 1839) – нетопырь лесной.** 7 экземпляров из двух пунктов Беларуси.

**Витебская область.** *Шумилинский р-н:* • г. п. Оболь – в дупле, 1U, 26.07.1924, leg. экспедиция А. В. Федюшина.

**Минская область.** *Вилейский р-н:* • д. Бояры, ок., биостанция БГУ – из колонии ок. 100 ос. ММFF на территории биостанции, под жестяной обшивкой крыши, 2Fad, 3Мjuv, 1Ujuv, 19.07.1992, leg. Гричик, Балаш.

***Pipistrellus pipistrellus sensu lato.*** 49 экземпляров из Беларуси. Около половины экземпляров (24) составляют сборы из одного пункта – д. Деражня Гомельской области.

*Примечание.* Виды *Pipistrellus pipistrellus* (Schreber, 1774) – нетопырь-карлик и *Pipistrellus pygmaeus* (Leach, 1825) – нетопырь-пигмей в качестве самостоятельных различают только с конца 1990-х годов [16, 17]; ранее их рассматривали как единый вид. Надежная видовая идентификация коллекционных экземпляров этих двух видов по морфологическим признакам невозможна. Все экземпляры «малых нетопырей» хранятся в коллекции как *P. pipistrellus*; здесь они приведены нами под названием *sensu lato*. На сегодня присутствие *P. pygmaeus* в фауне Беларуси однозначно подтверждено как в ходе натурных исследований (разные пункты), так и путем молекулярно-генетической идентификации (НП «Беловежская пуца», НП «Нарочанский», г. Минск) [13, 18, 19]. Данные по нахождению второго вида – *P. pipistrellus s. s.* – основаны, насколько можно судить по опубликованным материалам, на детекторных наблюдениях [13]. На наш взгляд, требуются дополнительные исследования, которые позволили бы однозначно подтвердить обитание этого вида в Беларуси.

**Брестская область.** *Каменецкий р-н:* • д. Ляцкие – за шалевкой окна, 1F, 11.06.1959, leg. Курсков; *ibid* – 1Fjuv, 1U, 22.07.1969, leg. Курсков. *Пружанский р-н:* • д. [Ясень], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – 2Fjuv, 24.07.1956, leg. Курсков; *ibid* – 1М, 3F, 06.08.1956, leg.? (этикетированы как *N. noctula*); *ibid* – усадьба лес-ва, 2F, 09 и 29.07.1957, leg. Курсков.

**Витебская область.** *Шумилинский р-н:* • г. п. Оболь – в дупле, 1U, 26.07.1924, leg. экспедиция А. В. Федюшина.

**Гомельская область.** *Брагинский р-н:* • д. Верхние Жары – 1М, 1Мjuv, 3F, 15, 16, 20.08.1925, leg. экспедиция А. В. Федюшина; *Житковичский р-н:* • д. Хлупин – 2Мjuv, 1Fjuv, 22.06.1967, leg. Курсков. *Речицкий р-н:* • д. Деражня – 7М, 14F, 1Fjuv, 2U, 11.06–12.08.1930, leg.?

**? область.** • [Березинский заповедник] = «Белорусский государственный заповедник» – 3F, 31.05 и 01.06.1934, leg. Сержанин. • «БССР» – 1F, 06.1927, leg.?

***Vespertilio murinus* Linnaeus, 1758 – кожан двухцветный.** 10 экземпляров из 4 областей Беларуси.

**Брестская область.** *Каменецкий р-н:* • д. Ляцкие, Беловежская пуца, Королево-Мостовское лес-во – за шалевкой, 1М, 09.06.1959, leg. Курсков; • д. [Хвойник], Беловеж. пуца, Хвойникское лес-во – под гонтом крыши дома, 1F, 23.05.1957, leg. Курсков. *Пружанский р-н:* • д. Ясень – 1Fad, 20.07.1969, leg. Курсков. • с. [Ясень], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – усадьба, 1М, 20.06.1956, leg. Курсков.

**Витебская область. Шумилинский р-н:** • ст. Оболь – в дупле, 1Mjuv, 1Fjuv, 1U, 26.07.1924, leg. Федюшин; • д. Переходцы – 1F, 26.07.1949, leg. Слесаревич.

**Гродненская область. Свислочский р-н:** • д. Жарковщина, Беловеж. пуца, Свислочское лес-во – 1M, 29.06.1957, leg. Курсков.

**Минская область.** • г. Минск – ЮЗ окраина, в помещении 9-этажного дома вблизи ж/д станции «Роца», 1F, 01.12.2004, leg. Писаненко.

***Eptesicus serotinus* (Schreber, 1774) – кожан поздний.** 10 экземпляров из двух областей Беларуси и с территории Польши.

**Брестская область. Каменецкий р-н:** • д. [Ляцкие, ок.], Беловеж. пуца, Королево-Мостовское лес-во, пойма р. Лесная – на территории усадьбы хоз-ва, 1F, 19.08.1958, leg. Курсков; • д. Пашуки, Королево-Мостовское лес-во – за ставней, 3F, 25.05.1958, leg. Курсков; • д. Подбела, Беловежская пуца – за ставней окна, 1M, 14.06.1957, leg. Курсков. **Пружанский р-н:** • д. [Ясень, ок.], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – кв. 873, опушка леса, 1M, 04.06.1956, leg. Курсков; *ibid* – усадьба лес-ва, 1M, 1F, 06.08.1956 и 30.07.1957, leg. Курсков.

**Минская область.** • г. Минск – здание АН, 1F, 08.04.1940, leg. Сержанин.

**Польша, Подляшское воев-во.** • д. Беловеж – в парке, 1Fjuv, 07.07.1940, leg. Слесаревич.

***Eptesicus nilssonii* (Keyserling & Blasius, 1839) – кожанок северный.** 5 экземпляров из Беларуси.

**Брестская область. Каменецкий р-н:** • аг. [Каменюки], Беловеж. пуца, Королево-Мостовское лес-во – усадьба управления заповедника, 2F, 02.07.1957, leg. Дацкевич. **Пружанский р-н:** • д. [Ясень, ок.], Беловеж. пуца, Ясеньское лес-во – усадьба, 1F, 13.06.1956, leg. Курсков.

**Витебская область. Лепельский р-н:** • д. Переходцы – 1M, 26.07.1949, leg. Слесаревич.

**? область.** • [Березинский заповедник] = «Белорусский государственный заповедник» – 1U, 31.05.1934, leg. Сержанин.

Помимо указанных экземпляров, данные по которым позволяют обозначить место их происхождения, в экспозиционной части музея представлено еще несколько чучел с неполными данными: 2 экз. *N. noctula*, 1 экз. *V. murinus* (1986 г., В. Л. Бибигов, В. М. Коренчук, изг. П. П. Прибыщук), 1 экз. *E. serotinus* (изг. П. П. Прибыщук), *P. kuhlii* (Л. П. Шкляр, изг. П. П. Прибыщук), 1 экз. *Vespertilionidae*, а также 3 экз. *Rousettus aegyptiacus* (переданных из Минского зоопарка в 2006 г.; изг. А. А. Митянин).

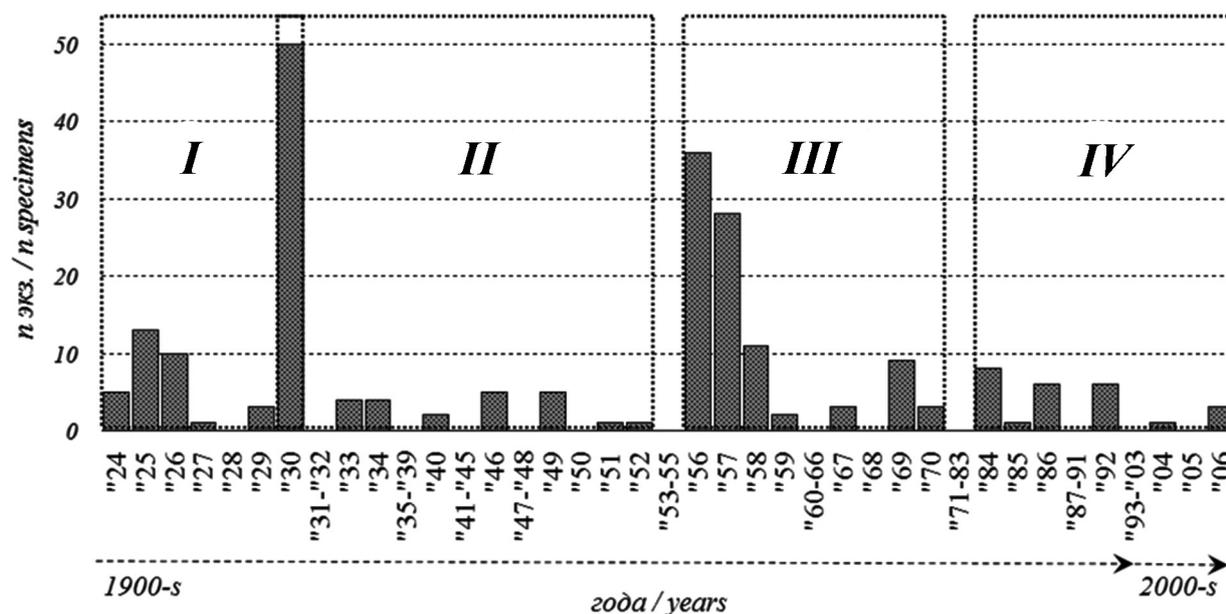


Рис. 2. Распределение экземпляров с указанной датой по годам сбора (рамками обозначены условные периоды)

Fig. 2. Distribution of specimens with pointed data by years (frames identify conditional period)

В наполнении коллекции рукокрылых зоологического музея БГУ принимали участие выдающиеся белорусские зоологи, такие как А. В. Федюшин, И. Н. Сержанин, А. Н. Курсков и др. Условно можно выделить четыре периода сборов коллекционных материалов (рис. 2).

Основа коллекции сформирована экземплярами, собранными в ходе ряда экспедиций, организованных А. В. Федюшиным по территории Беларуси в 1920-е и в начале 1930-х годов. Опубликованные отчеты экспедиций [20–22] содержат ценные эколого-фаунистические сведения, касающиеся всей территории довоенной Беларуси – ныне Гомельской, Витебской, Могилевской и Минской областей. Данные и коллекционные материалы экспедиций представляют значительный интерес, поскольку являются результатом первого для Восточной Беларуси систематического и обширного изучения фауны. По доступной нам информации экземпляры, собранные экспедициями, являются самыми первыми коллекционными экземплярами рукокрылых, ныне представленными в музеях Беларуси в целом.

В сборах 1930-х – начала 1950-х годов присутствуют экземпляры, собранные И. Н. Сержаниным, В. В. Слесаревичем и [И. В.] Меркушовой. И. Н. Сержанин – автор первого систематизированного обобщения по териофауне Беларуси, представленного в авторской монографии «Млекопитающие Белорусской ССР» (первое издание вышло в 1955 г. [23]; включало 14 видовых очерков рукокрылых).

Следующий этап наполнения коллекции (1956–1970 гг.) связан главным образом с работой А. Н. Курскова – первого исследователя Беларуси, специализировавшегося на изучении рукокрылых. Результаты его работы во второй половине 1950-х годов дополнили 2-е издание «Млекопитающих Белорусской ССР» [8]. Результаты же более 25-летней исследовательской деятельности А. Н. Курскова были сведены в первую специальную монографию «Рукокрылые Белоруссии», вышедшую в свет в 1981 г. [9] и ставшую значительной вехой в изучении фауны региона. Экземпляры, собранные А. Н. Курсковым в разных регионах Беларуси, а главным образом в Беловежской пуше, составляют более трети коллекции рукокрылых зоологического музея БГУ.

В 1984–2006 гг. коллекция была пополнена сборами В. В. Гричика, П. П. Прибыщука, а также Л. П. Шклярова, В. Л. Бибилова, В. М. Коренчука, А. В. Балаша, А. Д. Писаненко, переданными экземплярами из Минского зоопарка.

Все перечисленное выше позволяет заключить, что, помимо прочего, коллекция отражает историю зоологических, в частности хироптерологических, исследований в Беларуси на протяжении XX и начала XXI в. Экземпляры, хранящиеся в коллекции, позволяют удостовериться в надежности представленных в публикациях данных, дополняют их соответствующими сведениями, а также подтверждают высокий уровень исследований.

По доступным нам сведениям рассматриваемая коллекция является наибольшей музейной коллекцией рукокрылых Беларуси. Она представляет несомненную научную и историческую ценность и потенциально является базой для проведения исследований различного профиля.

**Благодарности.** Выражаем благодарность директору музея БГУ А. Д. Писаненко за всемерное содействие работе с коллекцией и проф. В. В. Гричику за ценные разъяснения, которые помогли с географической привязкой материала.

**Acknowledgements.** We thank the director of the Zoological museum of BSU Alexander D. Pisanenko for every kind of assistance to our work with the collection and Prof. Vasily V. Gritchik for valuable explanations which helped with geo-referencing of specimens.

### Список использованных источников

1. Годлевська, Л. В. Рецентні рукокрилі в колекції палеонтологічного музею ННПМ НАН України / Л. В. Годлевська // Зб. праць Зоол. музею. – 2013. – Вип. 44. – С. 145–157.
2. Загороднюк, І. Зоологічні колекції та музеї як осередки дослідження біорізноманіття / І. Загороднюк, І. Смельянов, О. Червоненко // Зоологічні колекції та музеї як осередки дослідження біорізноманіття : зб. наук. праць / за ред. І. Загороднюка. – Київ, 2014. – С. 6–9.
3. Digitization of biodiversity collections reveals biggest data on biodiversity / L. M. Page [et al.] // BioScience. – 2015. – Vol. 65, N 9. – P. 841–842. <https://doi.org/10.1093/biosci/biv104>
4. Стрелков, П. П. Об эколого-фаунистических исследованиях рукокрылых / П. П. Стрелков // Plecotus et al. – 1999. – № 2. – С. 3–10.

5. Shpak, A. Current status of bat fauna in Belarus / A. Shpak // Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси : материалы XI Зоол. Междунар. науч.-практ. конф., приуроч. к десятилетию основания ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (г. Минск, 1–3 нояб. 2017 г.) : в 2 т. / редкол. : О. И. Бородин (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2017. – Т. 1. – С. 427–430.
6. Писаненко, А. Д. История Зоологического музея Белорусского университета / А. Д. Писаненко, Л. П. Шклярков // Фауна и систематика : тр. Зоол. музея Белорус. ун-та / ред. : И. К. Лопатин [и др.]. – Минск, 1995. – Вып. 1. – С. 6–22.
7. Список справочных коллекций Зоологического музея биологического факультета БГУ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://bio.bsu.by/zoomuz/fond.html>. – Дата доступа: 09.04.2020.
8. Сержанин, И. Н. Млекопитающие Белорусской ССР / И. Н. Сержанин. – 2-е изд. – Минск : Изд-во АН БССР, 1961. – 330 с.
9. Курсков, А. Н. Рукокрылые Белоруссии / А. Н. Курсков. – Минск : Наука и техника, 1981. – 134 с.
10. Стрелков, П. П. Места находок *Myotis brandtii* Eversmann, 1845 и *Myotis mystacinus* Kuhl, 1819 (Chiroptera, Vespertilionidae) по материалам музеев СССР / П. П. Стрелков // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. – 1983. – Т. 119. – С. 38–42.
11. Shpak, A. First Record of *Myotis brandtii* (Mammalia, Vespertilionidae) in the Central Polesie of Belarus / A. Shpak // Вестн. зоологии. – 2010. – Т. 44, № 3. – С. 252.
12. Kusnez, O. V. Records of *Barbastella barbastellus* and *Myotis brandtii* in National park “Pripatsky” (Belarus) / O. V. Kusnez, V. Ch. Dombrovski, M. V. Skripan // Teriofauna of protected areas and conservation of mammals: materials of XIX theriological school-workshop (Chornomorsky Biosphere Reserve, 24–29.09.2012). – 2012. – P. 28.
13. Домбровский, В. Ч. Результаты учетов рукокрылых (Chiroptera) в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике в 2016–2017 гг. / В. Ч. Домбровский // Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси : материалы XI Зоол. Междунар. науч.-практ. конф., приуроч. к десятилетию основания ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (г. Минск, 1–3 нояб. 2017 г.) : в 2 т. / редкол. : О. И. Бородин (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2017. – Т. 1. – С. 105–112.
14. Пикулик, М. М. Современный состав, стратегии изучения и охраны рукокрылых Беларуси / М. М. Пикулик, М. Г. Демянчик // Структурно-функциональное состояние биологического разнообразия животного мира Беларуси : тез. докл. VIII Зоол. науч. конф. / редкол. : М. М. Пикулик (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 1999. – С. 84–87.
15. Dombrovski, V. C. New occurrence and the first breeding record of *Nyctalus lasiopterus* in Belarus / V. C. Dombrovski, V. A. Fenchuk, D. V. Zhurauliou // Vespertilio. – 2016. – N 18. – P. 55–59.
16. DNA answers the call of pipistrelle species / E. M. Barrat [et al.] // Nature. – 1997. – Vol. 387, N 6629. – P. 138–139. <https://doi.org/10.1038/387138b0>
17. Mayer, F. Cryptic diversity in European bats / F. Mayer, O. von Helversen // Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci. – 2001. – Vol. 268, N 1478. – P. 1825–1832. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1744>
18. Dombrovski, V. The bat fauna (Mammalia, Chiroptera) of Stary Zhaden zakaznik, southern Belarus / V. Dombrovski, V. Fenchuk, D. Zhurauliou // Proc. Theriol. School. – 2017. – Vol. 15. – P. 3–9. <https://doi.org/10.15407/ptt2017.15.003>
19. Shpak, A. Species composition and genetic structure of *Pipistrellus pipistrellus/pygmaeus* complex in Belarus / A. Shpak, A. Larchenko // 5th International Berlin Bat Meeting: are bats special? (Berlin, Germany, 24–26 February 2017) / Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research. – Berlin, 2017. – P. 50.
20. Фядзюшын, А. У. Вынікі фаўністычнай экспедыцыі на Віцебшчыне і на Дняпры, 1924 г. / А. У. Фядзюшын // Матэрыялы да вывучэння флоры і фаўны Беларусі. – 1927. – Т. 1. – С. 19–39.
21. Фядзюшын, А. У. Справаздача з фаўністычных даследаванняў на р. Прыпяць і воз. Князь улетку 1926 г. / А. У. Фядзюшын // Матэрыялы да вывучэння флоры і фаўны Беларусі. – 1928. – Т. 2. – С. 103–117.
22. Фядзюшын, А. У. Справаздача аб экспедыцыі да вывучэння фаўны ўсходняй часткі БССР улетку 1925 г. / А. У. Фядзюшын // Матэрыялы да вывучэння флоры і фаўны Беларусі. – 1928. – Т. 2. – С. 78–102.
23. Сержанин, И. Н. Млекопитающие Белорусской ССР / И. Н. Сержанин. – Минск, Изд-во АН БССР, 1955. – 311 с.

## References

1. Godlevska L. V. Recent bats in the collection of the paleontological museum of NMNH, NAS of Ukraine. *Zbirnik prats' Zoologichnogo muzeyu* [Collection of works of the Zoological museum], 2013, iss. 44, pp. 145–157 (in Ukrainian).
2. Zagorodniuk I., Emelianov I., Chervonenko O. Zoological collections and museums as centers for biodiversity research. *Zoologichni koleksii ta muzei yak osередki doslidzhennya bioriznomanittya: zbirnik naukovikh prats' [Zoological collections and museums: collection of scientific articles]*. Kiev, 2014, pp. 6–9 (in Ukrainian).
3. Page L. M., MacFadden B. J., Fortes J. A., Soltis P. S., Riccardi G. Digitization of biodiversity collections reveals biggest data on biodiversity. *BioScience*, 2015, vol. 65, no. 9, pp. 841–842. <https://doi.org/10.1093/biosci/biv104>
4. Strelkov P. P. Eco-faunistical investigations of bats. *Plecotus et al.*, 1999, no. 2, pp. 3–10 (in Russian).
5. Shpak A. Current status of bat fauna in Belarus. *Aktual'nye problemy zoologicheskoi nauki v Belarusi: materialy XI Zoologicheskoi Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, priurochennoi k desyatilетию osnovaniya GNPO “NPTs NAN Belarusi po bioresursam” (Minsk, 1–3 noyabrya 2017 goda). Tom 1* [Actual problems of zoological science in Belarus: Proceedings of the XI Zoological International scientific and practical conference dedicated to the 10th anniversary of the founding of the Scientific and Production Association “Scientific and Practical Center for Biological Resources of the National Academy of Sciences of Belarus” (Minsk, November 1–3, 2017). Vol. 1]. Minsk, 2017, pp. 427–430.
6. Pisanenko A. D., Shklyarov L. P. History of the Zoological Museum of the Belarusian University. *Fauna i sistematika: trudy Zoologicheskogo muzeyu Belorusskogo universieta. Vypusk 1* [Fauna and taxonomy: Proceedings of the Zoological Museum of the Belarusian University. Issue 1]. Minsk, 1995, pp. 6–22 (in Russian).

7. List of reference collections of the Zoological Museum of the Biological Faculty of BSU. Available at: <http://bio.bsu.by/zoomuz/fond.html> (accessed 09.04.2020).

8. Serzhanin I. N. *Mammals of Belarusian SSR. 2nd ed.* Minsk, Publishing House of the Academy of Sciences of the Belarusian SSR, 1961. 330 p. (in Russian).

9. Kurskov A. N. *Bats of Belarus.* Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1981. 134 p. (in Russian).

10. Strelkov P. P. Record sites of *Myotis brandti* Eversmann, 1845 and *Myotis mystacinus* Kuhl, 1819 (Chiroptera, Vespertilionidae) based on materials of museums in the USSR]. *Trudy Zoologicheskogo instituta Akademii nauk SSSR* [Proceedings of the Zoological Institute, Academy of Sciences of the USSR], 1983, vol. 119, pp. 38–42 (in Russian).

11. Shpak A. First Record of *Myotis brandtii* (Mammalia, Vespertilionidae) in the Central Polesie of Belarus. *Vestnik zoologii* [Bulletin of zoology], 2010, vol. 44, no. 3, p. 252.

12. Kusnezh O. V., Dombrovski V. Ch., Skripan M. V. Records of *Barbastella barbastellus* and *Myotis brandtii* in National park “Pripatsky” (Belarus). *Teriofauna of protected areas and conservation of mammals: materials of XIX theriological school-workshop (Chornomorssky Biosphere Reserve, 24–29.09.2012)*, 2012, p. 28 (in Ukrainian).

13. Dombrovski V. Ch. The results of bat (Chiroptera) count in Polesye State Radiation Ecological Reserve in 2016–2017. *Aktual'nye problemy zoologicheskoi nauki v Belarusi: materialy XI Zoologicheskoi Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, priurochennoi k desyatiletiyu osnovaniya GNPO “NPTs NAN Belarusi po bioresursam” (Minsk, 1–3 noyabrya 2017 goda). Tom 1* [Actual problems of zoological science in Belarus: Proceedings of the XI Zoological International scientific and practical conference dedicated to the 10th anniversary of the founding of the Scientific and Production Association “Scientific and Practical Center for Biological Resources of the National Academy of Sciences of Belarus” (Minsk, November 1–3, 2017). Vol. 1]. Minsk, 2017, pp. 105–112 (in Russian).

14. Pikulik M. M., Demyanchik M. G. Current species composition, strategies for the research and protection of bats in Belarus. *Strukturno-funktsional'noe sostoyanie biologicheskogo raznoobraziya zhyvotnogo mira Belarusi: tezisy dokladov VIII Zoologicheskoi nauchnoi konferentsii* [Structural and functional state of the biological diversity of the animal world of Belarus: abstracts of the VIII Zoological scientific conference]. Minsk, 1999, pp. 84–87 (in Russian).

15. Dombrovski V. C., Fenchuk V. A., Zhurauliou D. V. New occurrence and the first breeding record of *Nyctalus lasiopterus* in Belarus. *Vespertilio*, 2016, no. 18, pp. 55–59.

16. Barratt E. M., Deaville R., Burland T. M., Bruford M. W., Jones G., Racey P. A., Wayne R. K. DNA answers the call of pipistrelle species. *Nature*, 1997, vol. 387, no. 6629, pp. 138–139. <https://doi.org/10.1038/387138b0>

17. Mayer F., von Helversen O. Cryptic diversity in European bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2001, vol. 268, no. 1478, pp. 1825–1832. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1744>

18. Dombrovski V., Fenchuk V., Zhurauliou D. The bat fauna (Mammalia, Chiroptera) of Stary Zhaden zakaznik, southern Belarus. *Proceedings of the Theriological School*, 2017, vol. 15, pp. 3–9. <https://doi.org/10.15407/ptt2017.15.003>

19. Shpak A., Larchenko A. Species composition and genetic structure of *Pipistrellus pipistrellus/pygmaeus* complex in Belarus. *5th International Berlin Bat Meeting: are bats special? (Berlin, Germany, 24th–26th of February 2017)*. Berlin, 2017, p. 50.

20. Fyadzyushyn A. U. The results of the faunal expedition in the Vitebsk and Dnieper regions. *Materyyaly da vyvuchennya flory i fauny Belarusi* [Materials for studying the flora and fauna of Belarus], 1927, vol. 1, pp. 19–39 (in Belarusian).

21. Fyadzyushyn A. U. The report on faunal researches on the Pripyat River and Kniaz' Lake in the summer of 1926. *Materyyaly da vyvuchennya flory i fauny Belarusi* [Materials for studying the flora and fauna of Belarus], 1928, vol. 2, pp. 103–117 (in Belarusian).

22. Fyadzyushyn A. U. The report on the expedition to study the fauna of the eastern part of Belarus in the summer of 1925. *Materyyaly da vyvuchennya flory i fauny Belarusi* [Materials for studying the flora and fauna of Belarus], 1928, vol. 2, pp. 78–102 (in Belarusian).

23. Serzhanin I. N. *Mammals of Belarusian SSR.* Minsk, Publishing House of the Academy of Sciences of the Belarusian SSR, 1955. 310 p. (in Russian).

## Информация об авторах

Годлевская Елена Витальевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины (ул. Б. Хмельницкого, 15, 01054, г. Киев, Украина). E-mail: LGodlevska@gmail.com

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

## Information about the authors

Lena V. Godlevska – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Schmalhausen Institute of Zoology of the National Academy of Sciences of Ukraine (15, Bogdan Khmelnytskyi Str., 01054, Kyiv, Ukraine). E-mail: LGodlevska@gmail.com

Aliaksei V. Shpak – Senior Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shpak.dvergr@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

UDC 598.619:575.174.015.3(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-421-431>

Received 13.08.2020

**Kanstantsin V. Homel, Tatiana Y. Pavlushchick, Mikhail E. Nikiforov,  
Arseni A. Valnisty**

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

## **GENETIC DIVERSITY AND STRUCTURE OF THE BLACK GROUSE *LYRURUS TETRIX* LINNAEUS, 1758 POPULATION IN BELARUS**

**Abstract.** It is known that black grouse is a valuable resource species of the wild fauna of Belarus. The Belarusian population went through the stages of population decline and redistribution into new agrarian landscape territories – extensive anthropogenic involvement transformed significant parts of the species' habitat in the course of large-scale land reclamation campaigns, which originated in 1950s. In order to rationally use the preserved black grouse subpopulations, an assessment of the level of their genetic diversity and degree of differentiation was made. For the latter purpose, microsatellite analysis was utilized. It was found that at the present stage the black grouse population has a sufficient level of adaptability (based on indicators of genetic diversity and effective population size) necessary to maintain viability in the foreseeable future.

**Keywords:** *Lyrurus tetrix*, black grouse, genetic diversity, genetic differentiation, microsatellites, Belarus

**For citation:** Homel K. V., Pavlushchick T. Y., Nikiforov M. E., Valnisty A. A. Genetic diversity and structure of the Black grouse *Lyrurus tetrix* Linnaeus, 1758 population 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. 4, pp. 421–431. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-421-431>

**К. В. Гомель, Т. Е. Павлющик, М. Е. Никифоров, А. А. Волнистый**

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

## **ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ТЕТЕРЕВА *LYRURUS TETRIX* LINNAEUS, 1758 В БЕЛАРУСИ**

**Аннотация.** Тетерев – ценный ресурсный вид дикой фауны Беларуси. В результате широкомасштабной мелиорации, начатой в 1950-е годы, популяция прошла через этапы снижения численности и перераспределения на новые территории – экстенсивно эксплуатируемые антропогенно трансформированные угодья. В целях рационального использования сохранившихся субпопуляций тетерева была проведена оценка уровня их генетического разнообразия и степени дифференциации. В качестве генетических маркеров использовались микросателлиты. В результате проведенной работы установлено, что на современном этапе популяция тетерева обладает достаточным уровнем адаптивности (на основании показателей генетического разнообразия и эффективного размера популяции), необходимым для сохранения ее жизнеспособности.

**Ключевые слова:** *Lyrurus tetrix*, тетерев, генетическое разнообразие, генетическая дифференциация, микросателлиты, Беларусь

**Для цитирования:** Генетическое разнообразие и популяционно-генетическая структура тетерева *Lyrurus tetrix* Linnaeus, 1758 в Беларуси / К. В. Гомель [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 421–431 (на англ.). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-421-431>

**Introduction.** The black grouse range covers the entire forest zone of Northern Eurasia from Scandinavia to southeastern Siberia, as well as part of the steppe zone. There has been a significant reduction in range and a decrease in numbers in the southern and western parts of the range over the course of the XX century. At the present time, isolated local black grouse populations inhabit mainly mountainous territories, and on plains they are confined to such habitats as peat bogs and moorlands. A particularly sharp decline was observed in 1970–1990s [1–5] and, to date, the size of most local isolated populations in western and central Europe does not exceed 100–200 individuals [1, 6–14].

Regarding Belarus, it can be stated that declining population numbers and receding range of black grouse has been noted in Belarus as a general trend over the last decades of the XX century, in line with the similar processes observed in Europe over the past century.

One of the preferred habitats of this species in Belarus – swampland – suffered a significant reduction in its total area in the course of large-scale drainage reclamation efforts, starting in 1950s. About 700 thousand hectares of bogs were drained for agricultural needs in Belarusian Polesie alone, of which more than 80 % were in the Pripjat basin [15]. The density of black grouse in the country almost halved in 1970s as compared to 1950s as a result of intensive land reclamation and agricultural development of natural lands with structural indicators optimal for black grouse (a combination of open spaces with a certain type of tree and shrub vegetation) [16–18].

In that twenty-year period, due to the reduction in the area of natural habitats, the black grouse began to inhabit local agrolandscape. The black grouse is well suited to live in conditions of extensive farming. In this connection, by the middle, and especially towards the end of 1980s, stabilization of the number and increase in the density of the black grouse population was noted in Belarus. The number of black grouse in that period counted in the range of 45–54 thousand individuals [19]. The local population maintained those approximate numbers until the late 1990s.

A steady downward trend in population numbers for black grouse emerged in Belarus in 2000s. 2008 saw a reduction of Belarussian black grouse population numbers from their 2001 values by 21 %, and 2014 – a reduction of 30.4 % [20–22].

The decline in the number of black grouse that began in the last decade is generally tied to farming intensification. A statistically significant negative correlation was found between the density of black grouse and the area of arable land in the Grodno region ( $r = -0.70$ ;  $p < 0.05$ ). An increase in the predators' numbers such as the fox and the northern goshawk is an additional factor contributing to the decline in the numbers of black grouse. Until recently, the increased number of wild boar, which is dangerous for all land-nesting birds, was a very significant threat factor, but in recent years, due to mass shooting (the fight against ASF, since 2013), this factor's role has decreased. The number of wild boars in Belarus fell from 80.4 thousand in 2013 to 7.8 thousand in April 2014. At the end of 2014, the number of wild boar counted approximately 8.6 thousand individuals, and in 2015 – 8.0 thousand [23]. In 2016–2018 the number of wild boars ranged between 2.6 thousand and 2.8 thousand individuals [24]. Thus, at present, the number of wild boars has decreased approximately by a factor of 30 compared to 2013, and by now it should not pose a significant threat to the black grouse. The latter is considered one of the major reasons of the increasing number of black grouse in 2014–2018. According to the Ministry of Forestry of The Republic of Belarus for 2012–2014 years, the numbers of the species' population counted approximately 34.6–39.9 thousand individuals according to spring surveys. The current population in 2018 reached 43.2 thousand individuals [24].

By the end of 2018, the fox population was also 1.8 times lower than in 2006. However, the local numbers of predatory invasive alien species such as a raccoon dog continues to grow. By 2015, the raccoon dog count in Belarus doubled compared to 2005.

A decrease in the number of black grouse in a short period of time were also noted in the regions neighboring Belarus. In the 1970s in Poland the number of black grouse counted approximately about 40–45 thousand individuals, and in the next 7 years, it decreased by 68 % [25].

An inventory of black grouse leks in Belarus showed that over the past decades there has been a significant change in their biotopic distribution. The decrease in the area of natural habitats of black grouse that occurred over the past 40–50 years as a result of large-scale drainage reclamation led to a redistribution of black grouse populations towards extensively exploited anthropogenically transformed lands. However, in the case of land-use change towards further intensification of agriculture a rapid decline in the black grouse number can be predicted. Considering the changes in land use that have occurred in the country and the trends of a drastic decline in the numbers of black grouse in the past, it is necessary to assess the stability of the species' population at the current stage. The importance of studying the genetic diversity and the genetic structure of animal populations is that these indicators have a direct impact on the continued success of their existence. This has been shown by an example of some black grouse populations in Europe [26]. The authors demonstrated that genetic diversity (observed heterozygosity, gene diversity ( $H_s$ )) is lower and inbreeding is higher in isolated populations (populations from southeastern Austria, England and Germany) compared with extended populations (from Scandinavia) and populations that are classified as adjacent (from the Alps and the Scottish

highlands). The role of fragmentation in the genetic differentiation of populations has been shown for the capercaillie when studying the metapopulation structure in the Alps [27]. The significant differentiation between all populations by allele frequency was demonstrated. The total differentiation based on all loci was 0.046 ( $p < 0.001$ ). Similar results were obtained in the study of capercaillie in the Bavarian Alps. The authors found a reliable genetic differentiation between pairs of populations separated by a distance of less than 10 km [28]. In another work, the genetic consequences of fragmentation on the capercaillie population were also studied using microsatellite markers in the European part of the range at various levels along the spatial gradient from high population connectedness in the forests of the boreal zone (Russia (Arkhangelsk, Yaroslavl, Karelia), Norway) to the metapopulation system in the Alps, as well as in the context of recent (Central Europe) and historical (Pyrenees) isolation [29]. As it could be expected, the genetic differentiation was the least pronounced within the continuous range of boreal forests. Based on the data received, the authors conclude that anthropogenic disturbance of habitats and fragmentation can lead to significant genetic and evolutionary consequences for the survival of the species.

Taking into account the significant fluctuations of the black grouse population in Belarus, we considered it relevant to assess the level of genetic diversity of the species in order to clarify the possible negative consequences of a decrease in numbers as a result of landscape transformation.

**Materials and methods.** A panel of microsatellite markers, originally developed for black grouse and capercaillie [30, 31], was selected for studying the intraspecific genetic diversity and structure of the black grouse populations (Tab. 1).

Table 1. Microsatellite markers used for black grouse genotyping

No.	Locus	Primer sequence (5'–3')	Annealing temperature, °C
1	BG15_F BG15_R	AAATATGTTTGCTAGGGCTTAC TACATTTTTCATTGTGGACTTC	54
2	BG16_F BG16_R	GTCATTAGTGCTGTCTGTCTATCT TGCTAGGTAGGGTAAAAATGG	54
3	BG18_F BG18_R	CCATAACTTAACTTGCACCTTC CTGATACAAAGATGCCTACAA	53
4	TUD1_F TUD1_R	ATTGCCAGGAACTTGCTC AACTACCTGCTTGTGCTTGG	59
5	TUT1_F TUT1_R	GGTCTACATTTGGCTCTGACC ATATGGCATCCCAGCTATGG	60
6	TUT2_F TUT2_R	CCGTGTCAAGTTCTCCAAAC TTCAAAGCTGTGTTTCATTAGTTG	60
7	TUT3_F TUT3_R	CAGGAGGCCTCAACTAATCACC CGATGCTGGACAGAAGTGAC	60
8	TUT4_F TUT4_R	GAGCATCTCCCAGAGTCAGC TGTGAACCAGCAATCTGAGC	60

Forward primers were labeled on 5' end with fluorescent dyes (PRIMETECH ALC) – Cy5 (BG) and Cy5.5 (TUD/TUT). PCR protocols for microsatellite loci TUT/TUD and BG are presented in Tab. 2, 3, respectively.

Table 2. PCR protocol for TUT/TUD loci

Phase	Temperature, number of cycles	Time
Initial denaturation	94 °C	3 min
Denaturation	94 °C	30 s
Annealing: TUT/TUD	59 °C (TUD) 60 °C (TUT)	30 s
Extension	72 °C	45 s
Final extension	72 °C	5 min
Hold	4 °C	∞

Table 3. PCR protocol for BG loci

Phase	Temperature, number of cycles		Time
Initial denaturation	92 °C		2 min
Denaturation	92 °C	30 cycles	30 s
Annealing: BG	Annealing at the specified temperature, °C		30 s
Extension	72 °C		30 s
Final extension	72 °C		5 min
Hold	4 °C		∞

Black grouse muscle tissues were provided by independent hunters from hunted birds. DNA extraction from black grouse muscle tissues was carried out with commercial genomic DNA purification kits (Fermentas).

We sampled genetic material from 42 individuals from 7 collection regions across Belarus (Tab. 4).

Table 4. Black grouse samples included in the study

No.	Sample code	Site collection	No.	Sample code	Site collection
1	AV00250	Borisov District, Minsk Region	22	AV00659	Polotsk District, Vitebsk Region
2	AV00640		23	AV01242 (Tet_4)	Gantsevichi District, Brest Region
3	AV00641		24	AV01243 (Tet_5)	
4	AV00673		25	AV01244 (Tet_6)	
5	AV00675		26	AV01245 (Tet_7)	
6	AV00677		27	AV01246 (Tet_8)	
7	AV00678		28	AV01247 (Tet_9)	
8	AV00688		29	AV01248 (Tet_10)	Lelchitsy District, Gomel Region
9	AV00721		30	AV01249 (Tet_11)	
10	AV00410	Krupki District, Minsk Region	31	AV01239 (Tet_1)	Gomel Region, PSRER*
11	AV00637		32	AV01240 (Tet_2)	
12	AV00638		33	AV01241 (Tet_3)	
13	AV00639		34	AV01250 (68-14)	
14	AV00671		35	AV01251 (71-14)	
15	AV00672		36	AV01252 (70-14)	
16	AV00717		37	AV01253 (67-14)	
17	AV00663	Myadel District, Minsk Region	38	AV01254 (78-14)	
18	AV00666		39	AV01255 (77-14)	
19	AV00655	Polotsk District, Vitebsk Region	40	AV01257 (55-14)	
20	AV00656		41	AV01258 (56-14)	
21	AV00657		42	AV01259 (60-14)	

\*State Environmental Research Institution “Polesye State Radiation-Ecological Reserve”.

The distribution of black grouse samples are presented in Fig. 1.

PCR products were genotyped using commercial protocols, reagents and software for the GenomeLab GeXP genetic analysis system (Beckman Coulter, USA). Software Tandem v 1.09 [32] was used for allele binning.

Fragment analysis data was evaluated for genotyping errors (null alleles, stuttering, large allele dropout) using software Micro-Checker version 2.2.3 [33, 34]. An additional estimate of the frequency of null alleles was carried out in Genepop version 4.3 [35, 36].

Analysis of the genetic structure of black grouse was carried out for 4 subpopulations (Fig. 1, *I–4*) and two groups of subpopulations (Fig. 1, *A, B*).

Analysis of the genotypes matching was done using GenAlEx v. 6.501 [37–39]. Samples with absolute genotype similarity were excluded from further analysis.

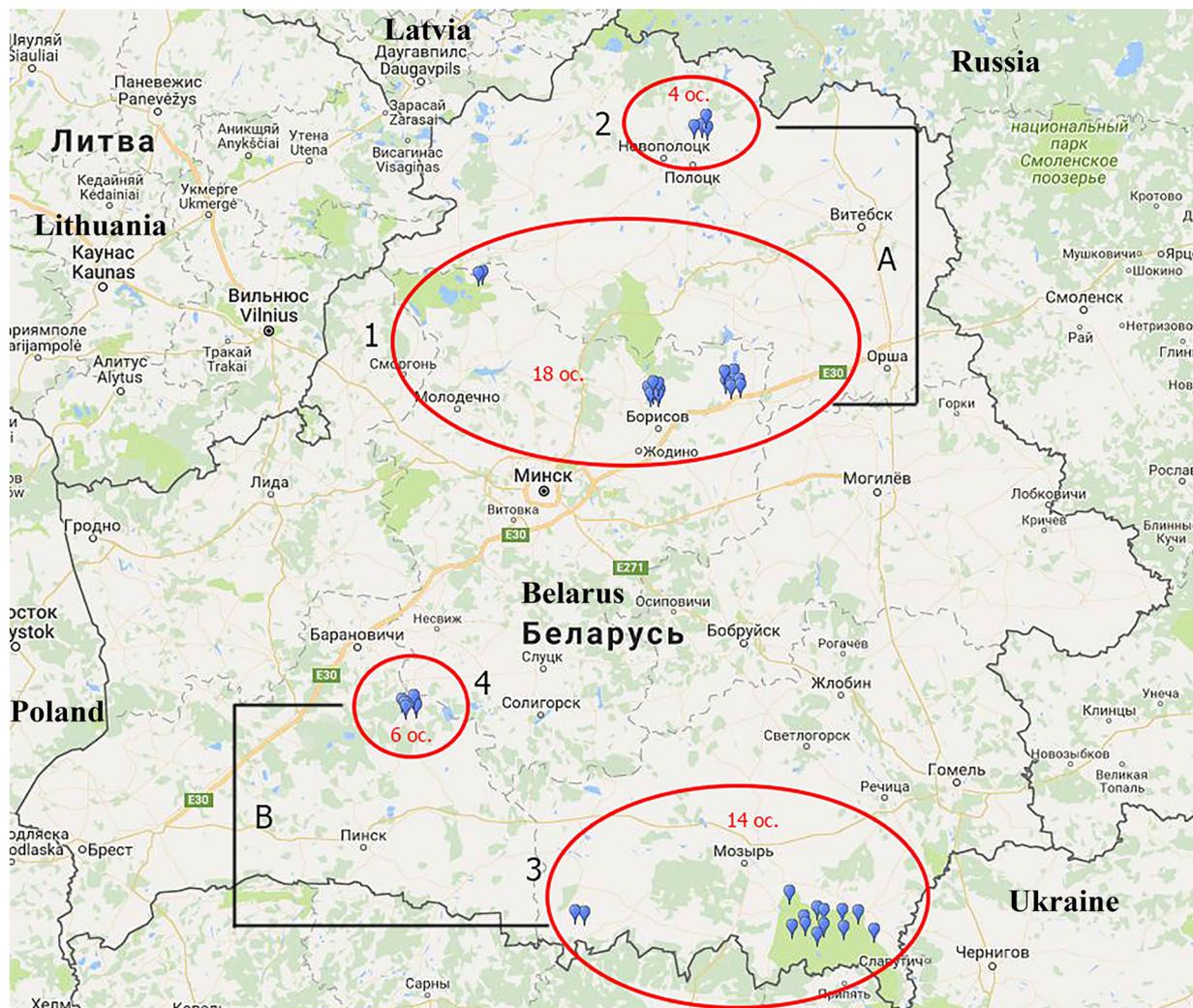


Fig. 1. Map of the black grouse samples distribution (“oc.” – specimens)

Linkage disequilibrium between loci was carried out in the Arlequin version 3.5.2.2 [40]. Parameters used: 10,000 permutations, confidence level at  $p < 0.05$ . The deviation of the studied loci from the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was also evaluated in the Arlequin with default settings.

A test for the past decline of black grouse population was carried out in the Bottleneck 1.2.02 [41]. In this analysis, the TPM (two phase model) was used with the following parameters: proportion of SMM (stepwise mutational model) in TPM = 95 %, variance = 12 % (in accordance with [42]). In addition, I.A.M. (infinite allele model) and S.M.M. models were used. Significance of heterozygote excess was assessed using the sign test, standardized differences test and Wilcoxon’s sign-rank test.

Number of alleles per population, allelic richness (AR), Weir and Cockerham’s inbreeding coefficient estimator (Fis, Weir & Cockerham, 1984), observed (Ho) and expected (He) heterozygosity were calculated using R package diveRsity v1.9.90 [43].

Bayesian inference of population structure was performed using the software STRUCTURE [44, 45]. STRUCTURE runs were performed under admixture model, correlated allele frequencies among populations and using sampling locations as prior information to assist the clustering (only for 4 subpopulations), length of burning period = 50 000, number of MCMC (Markov chain Monte Carlo) = 100 000. STRUCTURE analyses were conducted for 1–6 putative genetic clusters (K) with 15 runs for each value of K for 4 subpopulations and for 1–5 putative genetic clusters (K) with 20 runs for each value of K for 2 groups of black grouse subpopulations. To visualize the STRUCTURE results we used STRUCTURE HARVESTER [46]. An alternative way to find genetic structure was Principal

Coordinates Analysis (PCoA) in GenAlEx. Visualization of PCoA data was carried out in the PAST [47]. The population genetic structure was checked by pairwise comparing the fixation index ( $F_{st}$ ) between the selected subpopulations of black grouse in *diveRsity* and conducting a hierarchical analyses of molecular variance (AMOVA) in *Arlequin*. Additional calculating index of the population differentiation  $D_{est}$  (Jost, 2008) was performed in *diveRsity*. The index  $D_{est}$  was carried out due to the fact that  $F_{st}$  can be unreliable when the genetic diversity of the studied populations is very high (Jost, 2008 cited from [48]).

The calculation of the effective population size of the black grouse, as a measure to estimate the rate of loss of genetic variation due to genetic drift and inbreeding, was made according to the formulas given in Braude, 2010 [49].

The effective population size was calculated taking into account inbreeding (*inbreeding effective size,  $N_{ef}$* ) – this is the size of an ideal population that would allow the same accumulation of pedigree inbreeding as the actual population of interest; this effective population size indicates the loss of heterozygosity across all alleles in population of interest; calculated as a harmonic average population size over time from the founding generation to the penultimate generation.

Additionally, *variance effective size ( $N_{ev}$ )* was calculated (2). The variance effective population size is the size of an ideal population that would accumulate the same amount of variance in allele frequencies as the population of interest; this effective population size indicates how rapidly allele frequencies are likely to change.

**Results and discussion.** Testing in Micro-Checker indicated the presence of null alleles among the microsatellite results only for the singular locus TUT1. This was consistent with analysis for null alleles in Genepop. Therefore, TUT1 was excluded from further analysis. Concerning the rest of the loci, there was no indication of additional genotyping errors. Two pairs of samples – AV00677/AV00673 and AV00671/AV00672 had similar genotypes. The samples AV00673 and AV00672 were excluded from analysis.

Linkage disequilibrium analysis did not show any stable linkage between loci as it was seen from tests for 4 subpopulations and 2 groups of subpopulations of black grouse. This can be explained by the characteristic of the analyzed sample and is unlikely to have any connection with real linkage. All loci except TUT1 were in accordance with the HWE. We didn't find any convincing signs of rapid black grouse population decline in the past.

The indicators of genetic diversity (allelic richness, mean number of alleles) of black grouse subpopulations (Tab. 5) show nearly the same mid-level of diversity. This outcome remains unchanged whether the sample is considered are 4 subpopulations or 2 groups of subpopulations in the analysis. The lowest value of allelic richness is found in Pop2 (the northern region of Belarus) and corresponds to its low sample size. The level of both observed and expected heterozygosity is consistent with the inbreeding coefficient value – there are no signs of significant close related mating or genetic drift.

Table 5. Summary of the genetic diversity indices at 7 microsatellite loci among the black grouse subpopulations

Population	N	Na	AR (95 % CI)	Ho	He	Fis (95 % CI)
Pop1	16	5.86	3.58 (2.71–4.43)	0.73	0.69	–0.05 (–0.15...0.05)
Pop2	4	3.43	2.85 (2.00–3.43)	0.62	0.55	–0.12 (–0.40...0.06)
Pop3	14	5.0	3.26 (2.57–3.86)	0.67	0.63	–0.08 (–0.17...0.02)
Pop4	6	4.14	3.31 (2.57–3.86)	0.76	0.62	–0.24 (–0.41...–0.13)
PopA	20	6.14	5.58 (4.86–6.00)	0.71	0.68	–0.03 (–0.12...0.06)
PopB	20	5.86	5.21 (4.57–5.71)	0.70	0.65	–0.07 (–0.15...–0.004)

Note. N – sample size, Na – mean number of alleles, AR – allelic richness, Ho – observed heterozygosity, He – expected heterozygosity, Fis – inbreeding coefficient, 95 % CI – 95 % confidence intervals, Pop1 – the central region of Belarus, Pop2 – the northern region of Belarus, Pop3 – the southeast region of Belarus, Pop4 – the southwest region of Belarus, PopA – the northern region of Belarus, PopB – the southern region of Belarus.

We didn't observe significant genetic differentiation among most but for one pair of the investigated subpopulations neither through  $F_{st}$  nor through  $D_{est}$  (Tab. 6). The pair Pop3–Pop4 had low significant genetic differentiation for  $F_{st}$  (0.0487), but not for  $D_{est}$ . The last results are also consistent with AMOVA. The only one fixation index –  $F_{sc}$  (differentiation among subpopulations within groups) was significant (0.03,  $p < 0.05$ ), which most likely connected with genetic differentiation between Pop3 vs Pop4. Whereas there was no apparent genetic structure for pairwise black grouse subpopulations groups (A and B) comparison ( $F_{ct} = -0.002$ ,  $p > 0.05$ ).

Table 6. Genetic differentiation among the black grouse 4 subpopulations and 2 groups of subpopulations

Pairwise comparison	$F_{st}$ (95 % CI)	$D_{est}$ (95 % CI)
Pop1 vs Pop2	-0.0008 (-0.06...0.09)	-0.0040 (-0.07...0.18)
Pop1 vs Pop3	0.0266 (-0.01...0.07)	0.0239 (-0.04...0.11)
Pop1 vs Pop4	0.0195 (-0.02...0.09)	0.0004 (-0.06...0.14)
Pop2 vs Pop3	-0.0005 (-0.07...0.09)	-0.0032 (-0.04...0.14)
Pop2 vs Pop4	0.0770 (-0.01...0.20)	0.0217 (-0.09...0.20)
Pop3 vs Pop4	0.0487 (0.005...0.11)	0.0159 (-0.05...0.11)
PopA vs PopB	0.004 ( $p > 0.05$ )*	0.03 (-0.01...0.09)**

Note. \* – estimation was made in Arlequin, \*\* – estimation was made in GenAIEx, CI – 95 % confidence intervals.

Results from STRUCTURE indicated that there is no apparent population genetic partitioning (Fig. 2). Despite  $K = 2$  having the highest  $\Delta K$  value this estimation isn't distinctly different from other  $K$  values. Individuals from all putative populations have nearly equal membership proportions to each of the genetic clusters. Moreover,  $K = 1$  has the highest logarithmic probability among the  $K$  values.

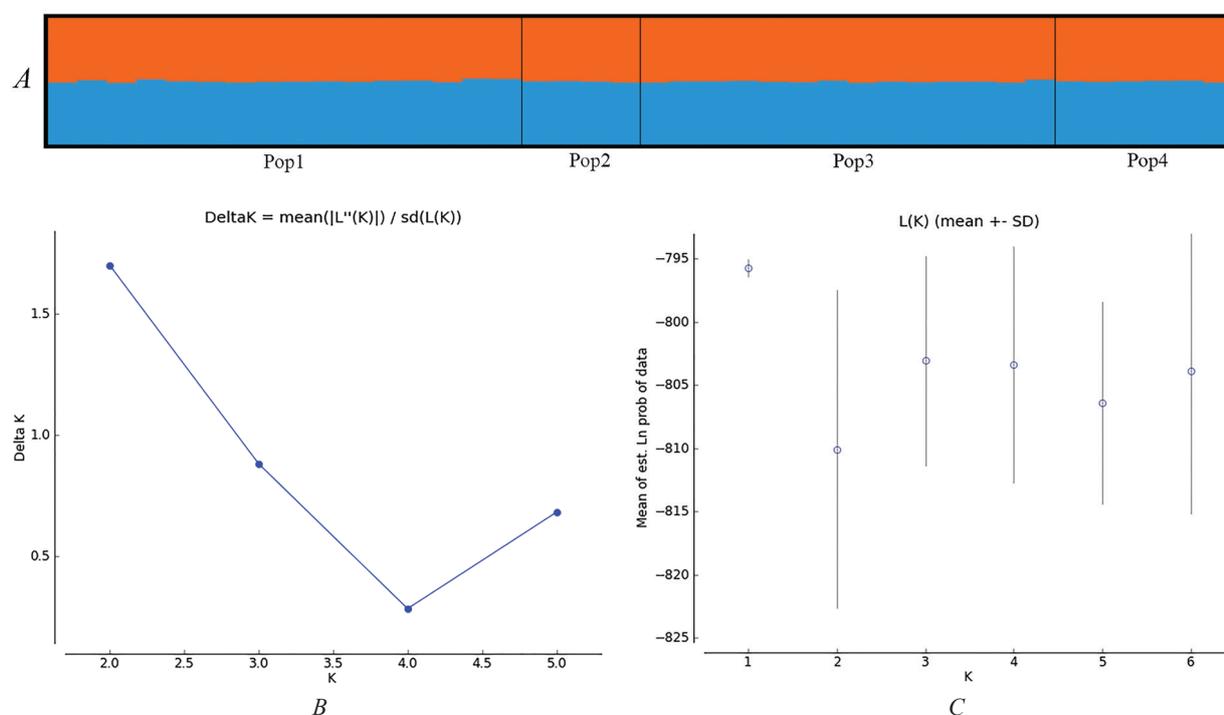


Fig. 2. Results of STRUCTURE analysis for 4 black grouse subpopulations: A – bar plot for  $K = 2$  (Mean  $\text{LnP}(K) = -810.0733$ ), each individual is represented by bar, the length of each segment of bar plot describes the estimated membership proportions to each of the genetic clusters; B –  $\Delta K$ ; C – estimated mean likelihoods of each number of genetic clusters

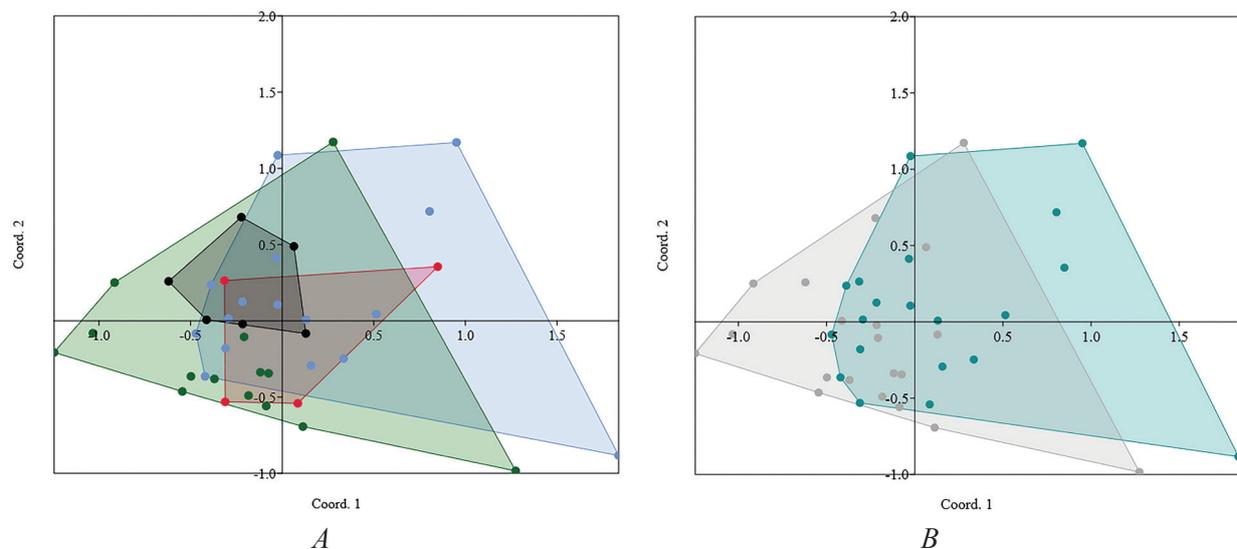


Fig. 3. Principal coordinate analysis of the black grouse 4 subpopulations and 2 groups of subpopulations: *A* – 4 subpopulations of black grouse (Pop1 – blue color, Pop2 – red color, Pop3 – green color, Pop4 – black color); *B* – 2 groups of black grouse subpopulations (PopA – turquoise, PopB – gray)

Principal coordinate analysis also did not indicate any significant genetic differentiation for either the 4 subpopulations of black grouse (Fig. 3) or for the 2 groups of black grouse subpopulations. The first 2 axes explained 31.14 % of the total variation.

The microsatellite analysis is consistent with the estimates of the effective population size of the black grouse in Belarus based on long-term census (Tab. 7).

The both inbreeding effective size ( $N_{ef}$ ) and variance effective population size ( $N_{ev}$ ) had very high values  $\approx 42\,669$  and  $41\,940$  respectively.

Table 7. The number of black grouse in Belarus

Year	Population size	Year	Population size
2001	52 000	2009	37 900
2002	51 900	2010	37 442
2003	49 930	2011	37 868
2004	48 204	2012	36 108
2005	47 464	2013	37 000
2006	45 730	2014	42 800
2007	41 631	2015	40 100
2008	41 168		

**Conclusion.** Taking into account the data obtained on the genetic diversity and population genetic differentiation of black grouse subpopulations in Belarus, the following conclusions can be drawn:

– the black grouse population has sufficient connectivity, which is expressed in the absence of a pronounced subpopulation subdivision (data from Bayesian analysis, Principal coordinate analysis, analysis of molecular variance and values of the indices of population separation  $F_{st}$  and  $D_{est}$ );

– the black grouse population can be characterized as stable and viable on the basis of genetic diversity estimation – the rates of both observed and expected heterozygosity are moderate, the population has not experienced a significant decline in numbers and there is no sign of inbreeding.

Thus, despite the strong change in the main black grouse habitat (swampland area reduction), the species has a good adaptive potential. In addition, the maintenance of high abundance of black grouse population in Belarus, as one of the main source of genetic variation, was facilitated by the ecological flexibility of the species, that is the ability to move into the new habitat – agricultural landscape. Of course, this situation will not be observed ubiquitously and will be determined by the quality of the habitat.

**Acknowledgements.** The research was funded by BRFFR № Б16-117. We would like thanks to colleagues from the Laboratory of ornithology of SSPA “Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus” for sample collection.

## References

1. Klaus S., Bergmann H.-H., Marti C., Müller F., Vitovic O. A., Wiesner J. *Die Birkhühner. Tetrao tetrix und T. Mloko-siewiczzi*. Wittenberg Lutherstadt, Ziemsen, 1990. 288 S.
2. Bergmann H.-H., Klaus S. Distribution, status and limiting factors of black grouse in central Europe, particularly in Germany, including an evaluation of reintroductions. *Gibier Faune Sauvage*, 1994, no. 11, pp. 99–124.
3. Lindström J., Rintamäki P. T., Storch I. Black grouse. *Journal of Birds of the Western Palearctic*, 1998, no. 2, pp. 173–191.
4. Storch I. Conservation status of grouse worldwide: an update. *Wildlife Biology*, 2007, vol. 13, suppl. 1, pp. 5–12. [https://doi.org/10.2981/0909-6396\(2007\)13\[5:csogwa\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2981/0909-6396(2007)13[5:csogwa]2.0.co;2)
5. Storch I. *Grouse: Status Survey and Conservation Action Plan 2006–2010*. Gland, IUCN and Fordingbridge, World Pheasant Association, 2007b. 114 p.
6. Holst-Jørgensen B. The black grouse in Denmark, 1978–1993. *Proceedings of the 6th International symposium on grouse: 20–24 September, Udine, Italy*. Udine, Italy, 1995, pp. 163–164.
7. Holst-Jørgensen B. The Black Grouse in Denmark 1978–2000. Actes du Colloque Tétrás Lyre, Liège 26-29 Septembre 2000. *Cahiers d’Ethologie*, 2001, vol. 20, no. 2–4, pp. 505–508.
8. Loneux M., Ruwet J.-C. Evolution des populations du tétras lyre *Tetrao tetrix* L. en Europe: un essai de synthèse. *Cahiers d’Ethologie*, 1997, vol. 17, no. 2–4, pp. 287–343.
9. Kamieniarz R. Bewertung der Verbreitung und Bestandgröße der Birkhuhn-population (*Tetrao tetrix*) in Polen in den 90er Jahren und Voraussetzungen für das active Schutzprogramm. Actes du Colloque Tétrás Lyre, Liège 26–29 Septembre 2000. *Cahiers d’Ethologie*, 2001, vol. 20, no. 2–4, pp. 253–276.
10. Kamieniarz R. Black Grouse habitats in Poland. *Sylvia*, 2003, no. 39 (suppl.), pp. 25–29.
11. Ten Den P., Niewold F. The Black Grouse in the Netherlands: monitoring the last (?) surviving population. Actes du Colloque Tétrás Lyre, Liège 26–29 Septembre 2000. *Cahiers d’Ethologie*, 2001, vol. 20, no. 2–4, pp. 299–310.
12. Loneux M., Lindsey J. K., Vandiepenbeeck M., Charlet O., Keulen C., Poncin P., Ruwet J. C. Climatic influence on Black grouse population dynamic in Belgian Hautes-Fagnes nature reserve: an update. *Sylvia*, 2003, no. 39 (suppl.), pp. 53–57.
13. Prüter J., Wübbenhorst J. Zur Situation des Birkhuhns (*Tetrao tetrix*) im Naturschutzgebiet Lüneburger Heide. *Jahrbuch des Naturwissenschaftlichen Vereins für das Fürstentum Lüneburg*, 2004, no. 43, pp. 9–34.
14. Niewold F. J. J., Ten Den P. G., Jansman H. A. H. *Het korhoen blijft in de gevarenzone. Ecologische en genetische monitoring van de populatie van de Sallandse Heuvelrug in 2003–2004*. Wageningen, Alterra, 2005. 58 p.
15. Parfenov V. I., Tsvirko L. S. Modern problems of rational use of natural resources of Pripjat Polesie. Message 1. *Vesnik Paleskaga dzyarzhavnaga universiteta. Seryya gramadskikh i gumanitarnykh navuk = Bulletin of Palesky state university. Series in social sciences and humanities*, 2009, no. 2, pp. 3–7 (in Russian).
16. Dolbik M. S. *Landscape structure of Belarus avifauna*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1974. 311 p. (in Russian).
17. Dolbik M. S. Grouse birds of Belarus. *Teterevinye ptitsy. Razmeshchenie zapasov, ekologiya, ispol'zovanie i okhrana* [Grouse birds. Placement of stocks, ecology, use and protection]. Moscow, 1975, pp. 216–224 (in Russian).
18. Dolbik M. S. The current state of stocks of capercaillie and black grouse in Belarus. *Puti povysheniya effektivnosti vedeniya okhotnich’ego khozyaistva BSSR* [Ways to improve the efficiency of hunting in the BSSR]. Minsk, 1984, pp. 15–16 (in Russian).
19. Ivanyutenko A. N., Pareiko O. A., Bychkov V. P., Rafalovich T. I., Semashko I. I. *Regularities of modern distribution and dynamics of the number of capercaillie and black grouse in Belarus*. Minsk, 1992. 18 p. Deposited at the Scientific and Production Ecological Center “Veras-Eco” 18.09.1992, no. 13 (in Russian).
20. Pavlyushchik T. E. Black grouse in Belarus: current state of the population. *Ekologicheskaya kul'tura i okhrana okruzhayushchei sredy: I Dorofeevskie chteniya: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 21–22 noyabrya 2013 goda)* [Ecological culture and environmental protection: I Dorofeevsky readings: materials of the International scientific and practical conference (Vitebsk, November 21–22, 2013)]. Vitebsk, 2013, pp. 199–201 (in Russian).
21. Pavlushchik T. Black Grouse in Belarus: current status and perspectives. *The 7th International black grouse conference: Abstracts of presentations (Pechoro-Ilychskiy State Nature Biosphere Reserve, Yaksha, Republic of Komi, Russia, 24–29 May 2014)*. Syktyvkar, 2014, pp. 16–17.
22. Pavlushchik T., Malakhov I. Status of black grouse in Belarus. *Black grouse endangered species: Abstracts of 5th European conference, Bialowieza, 5–9 October 2009*. Bialowieza, 2009, p. 20.
23. *Environmental Bulletin 2015*. Available at: <http://www.minpriroda.gov.by/ru/ecoza2015/> (accessed 25 June 2020) (in Russian).
24. *Environmental protection in the Republic of Belarus: statistical collection*. Minsk, National Statistical Committee of the Republic of Belarus, 2019. 199 p. (in Russian).

25. Graczyk R., Kwiatkowska G., Lempaszak U. Rozprzestrzenie i liczebność głąszca (*Tetrao urogallus* L.) i cietrzewia (*Lyrurus tetrix* L.) w Polsce w latach 1977–1983. *Rocznik Akademii Rolniczej w Poznaniu*, 1986, vol. 178, pp. 69–82.
26. Höglund J., Baines D., Larsson J. K., Segelbacher G. Population fragmentation and genetic variability in European Black Grouse – a progress report. *Sylvia*, 2003, vol. 39, pp. 17–23.
27. Segelbacher G., Storch I. Capercaillie in the Alps: genetic evidence of metapopulation structure and population decline. *Molecular Ecology*, 2002, vol. 11, no. 9, pp. 1669–1677. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01565.x>
28. Segelbacher G., Storch I., Tomiuk J. Genetic evidence of capercaillie *Tetrao urogallus* dispersal sources and sinks in the Alps. *Wildlife Biology*, 2003, vol. 9, no. 4, pp. 267–273. <https://doi.org/10.2981/wlb.2003.014>
29. Segelbacher G., Höglund J., Storch I. From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Molecular Ecology*, 2003, vol. 12, no. 7, pp. 1773–1780. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2003.01873.x>
30. Piertney S. B., Höglund J. Polymorphic microsatellite DNA markers in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes*, 2001, vol. 1, no. 4, pp. 303–304. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8278.2001.00118.x>
31. Segelbacher G., Paxton R. J., Steinbrück G., Trontelj P., Storch I. Characterization of microsatellites in capercaillie *Tetrao urogallus* (AVES). *Molecular Ecology*, 2000, vol. 9, no. 11, pp. 1934–1935. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.0090111934.x>
32. Matschiner M., Salzburger W. TANDEM: integrating automated allele binning into genetics and genomics workflows. *Bioinformatics*, 2009, vol. 25, no. 15, pp. 1982–1983. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp303>
33. Brookfield J. F. Y. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, 1996, no. 5, pp. 453–455. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1996.00098.x>
34. Chakraborty R., De Andrade M., Daiger S. P., Budowle B. Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications. *Annals of Human Genetics*, 1992, no. 56, no. 1, pp. 45–57. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1992.tb01128.x>
35. Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 1995, vol. 86, no. 3, pp. 248–249. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573>
36. Rousset F. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 2008, vol. 8, no. 1, pp. 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
37. Smouse P. E., Whitehead M. R., Peakall R. An informational diversity framework, illustrated with sexually deceptive orchids in early stages of speciation. *Molecular Ecology Resources*, 2015, vol. 15, no. 6, pp. 1375–1384. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12422>
38. Sherwin W., Jabot F., Rush R., Rossetto M. Measurement of biological information with applications from genes to landscapes. *Molecular Ecology*, 2006, vol. 15, no. 10, pp. 2857–2869. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02992.x>
39. Smouse P. E., Banks S. C., Peakall R. Converting quadratic entropy to diversity: Both animals and alleles are diverse, but some are more diverse than others. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 10, p. e0185499. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185499>
40. Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 2010, vol. 10, no. 3, pp. 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
41. Cornuet J. M., Luikart G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 1996, vol. 144, no. 4, pp. 2001–2014.
42. Rutkowski R., Zawadzka D., Suchecka E., Merta D. Conservation genetics of the capercaillie in Poland – Delineation of conservation units. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 4, p. e0174901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174901>
43. Keenan K., McGinnity P., Cross T. F., Crozier W. W., Prodöhl P. A. Diversity: an R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 2013, vol. 4, no. 8, pp. 782–788. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>
44. Falush D., Stephens M., Pritchard J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 2003, vol. 164, no. 4, pp. 1567–1587.
45. Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, vol. 155, no. 2, pp. 945–959.
46. Earl D. A., vonHoldt B. M., STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 2012, vol. 4, no. 2, pp. 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
47. Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, vol. 4, no. 1, 9 p.
48. Pavlovska M. *Ukrainian Black grouse (Tetrao tetrix) Genetic diversity and population structure: M. Sc. Thesis*. Uppsala, Biology Education Centre and Department of Population Biology and Conservation Biology Uppsala University, 2012. 35 p.
49. Braude S., Low B. S. (eds.). *An Introduction to Methods and Models in Ecology, Evolution, and Conservation Biology*. Princeton, Princeton University Press, 2010. 312 p.

### Информация об авторах

*Гомель Константин Вячеславович* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: homelkv@gmail.com

*Павлющик Татьяна Евгеньевна* – науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: hejkat@mail.ru

*Никифоров Михаил Ефимович* – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikif@tut.by

*Волнистый Арсений Андреевич* – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volnisty.aa@yandex.ru

### Information about the authors

*Kanstantin V. Homel* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: homelkv@gmail.com

*Tatiana Y. Pavlyushchik* – Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: hejkat@mail.ru

*Mikhail E. Nikiforov* – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikif@tut.by

*Arseni A. Valnisty* – Junior Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volnisty.aa@yandex.ru

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 635.64.632.3  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-432-440>

Поступила в редакцию 27.03.2020  
Received 27.03.2020

**В. В. Вабищевич, И. Г. Волчкевич, М. В. Конопацкая**

*Институт защиты растений, а/г Прилуки, Минский р-н, Республика Беларусь*

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОСОБЕННОСТИ ВЕКТОРНОЙ ПЕРЕДАЧИ *PEPINO MOSAIC VIRUS* В КУЛЬТУРЕ ТОМАТА ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА**

**Аннотация.** Известно, что томат является одной из самых восприимчивых овощных культур, поражаемых вирусными патогенами. В последние годы широкое распространение в тепличных посадках на территории Европы получил вирус мозаики пепино (*VMПеп*) – *Pepino mosaic virus*, вредоносность которого обусловлена снижением урожайности и товарности продукции.

Показано, что в разные годы исследований *VMПеп* в растительных образцах гибридов томата, выращиваемых в тепличных хозяйствах республики, присутствовал как самостоятельно, так и в сочетании с другими вирусами из родов *Cucumovirus*, *Tobamovirus*, *Nepovirus* и *Tobravirus*.

Данные лабораторных исследований свидетельствуют о способности тест-растений *Datura stramonium* L. и *Nicotiana rustica* L. к высокому накоплению вирусных частиц при заражении *VMПеп*. Установлено, что в векторной передаче возбудителя от растения к растению могут участвовать бахчевая тля (*Aphis gossypii* Glov.), западный цветочный трипс (*Frankliniella occidentalis* Perg.), тепличная белокрылка (*Trialeurodes vaporariorum* Wetw.), являющиеся основными вредителями на овощных культурах защищенного грунта.

**Ключевые слова:** томат, гибрид, вирус мозаики пепино, идентификация, иммуноферментный анализ, тест-растение, переносчик

**Для цитирования:** Вабищевич, В. В. Идентификация и особенности векторной передачи *Pepino mosaic virus* в культуре томата защищенного грунта / В. В. Вабищевич, И. Г. Волчкевич, М. В. Конопацкая // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 432–440. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-432-440>

**Viktoria V. Vabishchevich, Irina G. Vauchkevich, Marina V. Kanapatskaya**

*Institute of Plant Protection, a/c Priluki, Minsk Region, Republic of Belarus*

## **IDENTIFICATION AND ASSESSMENT OF VECTOR TRANSMISSION OF THE *PEPINO MOSAIC VIRUS* IN THE CULTURE OF TOMATO PROTECTED GROUND**

**Abstract.** It is known that tomato is one of the most susceptible vegetable crops affected by viral pathogens. Recently, *Pepino mosaic virus*, is widespread in greenhouse plantations in Europe the harmfulness of which leads to yield and marketability of products decrease.

The analysis of tomato hybrids grown in greenhouses of the republic has shown that in different years of research, *Pepino mosaic virus* has been present both in mono infection and in combination with the other viruses from the genus *Cucumovirus*, *Tobamovirus*, *Nepovirus* and *Tobravirus*.

Laboratory data indicate the susceptibility and ability to high accumulation of viral particles when test plants *Datura stramonium* L. and *Nicotiana rustica* L. have been infected with the pepino mosaic virus. It is determined that *Aphis gossypii* Glov., *Frankliniella occidentalis* Perg. and *Trialeurodes vaporariorum* Wetw. can participate in the vector transmission of the pathogen between host plants.

**Keywords:** tomato, hybrid, *Pepino mosaic virus*, identification, linked immunosorbent assay (ELISA-test), test plant, vector

**For citation:** Vabishchevich V. V., Vauchkevich I. G., Kanapatskaya M. V. Identification and assessment of vector transmission of the *Pepino mosaic virus* in the culture of tomato protected ground. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 432–440 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-432-440>

**Введение.** Учеными разных стран проводятся многоплановые исследования видового разнообразия вирусных заболеваний, путей их распространения, вредоносности, а также совершенствуются существующие и разрабатываются новые методы диагностики патогенов.

Томат является одной из самых восприимчивых культур из семейства *Solanaceae*, поэтому его культивирование в условиях защищенного грунта требует пристального внимания при изу-

чений этиологии, биологии и особенностей развития патологических процессов, вызываемых вирусами. Всего описано 136 видов вирусов, инфицирующих томат, 9 из которых включены Европейской и Средиземноморской организацией по карантину и защите растений (ЕОКЗР) в список карантинных вредных организмов [1–3]. Поскольку противовирусные продукты для защиты культуры отсутствуют, стратегии контроля основываются на использовании гибридов с высокой генетической устойчивостью, профилактических мерах предотвращения виروزов, раннем выявлении и искоренении больных растений [4].

Наряду с широко распространенными вирусами огуречной и томатной мозаики, вирусом бронзовости томата в число вредоносных патогенов культуры входит также вирус мозаики пепино (ВМПеп) – *Pepino mosaic virus (PepMV)* [5]. Основными растениями-хозяевами ВМПеп являются пепино (*Solanum muricatum* A.), картофель (*Solanum tuberosum* L.), томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.) и некоторые виды сорных растений (*Chenopodium murale* L., *Diploaxis erucoides* L., *Malva parviflora* L., *Moricandia arvensis* L., *Nicotiana glauca* G., *Sisymbrium irio* L., *Solanum nigrum* L., *Sonchus oleraceus* L., *Plantago afra* L. и др.) [6–8].

Присутствие вируса в посадках защищенного грунта отмечено во многих странах Европы, в том числе на территории Украины, Польши и Литвы [9–12]. В России ВМПеп идентифицирован на гибриде Алькасар, ранее широко культивируемом в тепличных хозяйствах Беларуси [13]. Установлено, что возбудитель эффективно передается при стандартных процедурах ухода за растениями, с циркулирующим питательным раствором, а также с помощью шмелей, используемых для опыления томата [14, 15].

В настоящее время известно 4 изолята вируса пепино, инфицирование которыми сопровождается сильной дифференциацией симптомов проявления заболевания на растениях и плодах (разные виды мозаик) [16–18]. Вследствие этого уровень экономических потерь урожая томатов от ВМПеп как между, так и внутри производственных регионов сильно варьируется, составляя от 15 до 80,0 % [19].

Быстрое континентальное распространение вируса пепино, международный торговый товарообмен, семенной импорт и потери урожая томата за счет ухудшения качества продукции стали предпосылкой для проведения целенаправленных исследований по выявлению возбудителя в тепличных посадках культуры на территории республики, а также установлению возможности его передачи векторным путем.

**Материалы и методы исследования.** Для идентификации вируса пепино использовали образцы различных гибридов томата с широким спектром вирусоспецифических симптомов, отобранные при маршрутных обследованиях тепличных посадок культуры, в том числе и плоды томата с признаками различного вида пятнистостей и/или с внутренним почернением мякоти (черные включения).

Для подтверждения видовой идентификации ВМПеп на томатах методом биологического тестирования в качестве экспериментального круга отобрано 10 видов растений-индикаторов из семейств *Solanaceae*, *Leguminoceae* и *Cucurbitaceae*: виды табака (*Nicotiana tabacum* L., *N. glutinosa* L., *N. rustica* L.), дурман обыкновенный (*Datura stramonium* L.), перец однолетний (*Capsicum annuum* L.), томат съедобный (*Lycopersicon esculentum* Mill.), физалис земляничный (*Physalis pruinosa* L.), фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.), огурец полевой (*Cucumis sativus* L.) и тыква обыкновенная (*Cucurbita pepo* Mill.).

Растения-индикаторы выращивали в лабораторных условиях при комнатной температуре (20–25 °С) и освещенности 8 тыс. лк. Поскольку для молодых растений характерна более высокая интенсивность клеточных реакций, механическая инокуляция тест-растений (по 5 штук каждого вида) ВМПеп проводилась нами в ранние фазы их онтогенеза (3–4 настоящих листа). В качестве инокулянта использовали растительный сок, выделенный из листьев инфицированного томата, ранее протестированный на наличие патогена. Контролем служили растения, инокулированные дистиллированной водой [20]. Наблюдения за реакцией тест-растений проводили через каждые 5–7 дней.

Для идентификации и определения уровня ВМПеп в растительном материале применяли метод твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА), используя коммерческие наборы фирм

Adgen Ltd (Великобритания) и BIOREBA AG (Швейцария). Оценку результатов анализа осуществляли на планшетном фотометре Multiskan MS (Labsystem) при длине волны 405 нм, который позволяет измерить оптическую плотность (ед. опт. пл.) продукта ферментативной реакции непосредственно в лунках планшета.

Для определения инфекционности вируса посредством насекомых-переносчиков (бахчевой тли (*Aphis gossypii* Glov.), белокрылки тепличной (*Trialeurodes vaporariorum* Wetw.), западного цветочного трипса (*Frankliniella occidentalis* Perg.)) проводили лабораторные опыты согласно методическим рекомендациям Ю. И. Власова с соавт. [21, 22].

**Результаты и их обсуждение.** Симптомы, индуцируемые ВМПеп при заражении томата, очень вариабельны. В некоторых случаях на растениях отмечают хлоротичную мозаику, пятнистость или деформацию листовую пластинки, а также хлороз или мраморность плодов [23, 24]. Такое варьирование фенотипического проявления ВМПеп при инфицировании томата возможно по многим причинам: различные изоляты патогена, влияние климатических факторов внешней среды, способ инфицирования, разная восприимчивость растений и т. д. [25]. За годы исследований нами также наблюдалась многообразная симптоматика на тепличных гибридах томата при поражении возбудителем (рис. 1).

В 2012 г. в посадках гибрида Жеронимо были обнаружены растения с симптомами светло-зеленой и желтой пятнистости, деформации, угнетения роста и развития листьев. В ходе лабораторных исследований 87 тест-образцов положительный результат на наличие ВМПеп получен для 25 (28,7 %) тестируемых проб. Патологические изменения листового аппарата отмечены и на других гибридах томата (Раиса, Старбак, Евпатор и Тореро), в пробах которых также выявлен вирус пепино. Максимальная концентрация патогена ( $E_{405} > 0,750$  ед. опт. пл.) отмечена в образцах томата Жеронимо F1 ( $0,786 \pm 0,16$ ), Евпатор F1 ( $0,807 \pm 0,06$ ) и Тореро F1 ( $2,130 \pm 0,211$ ).

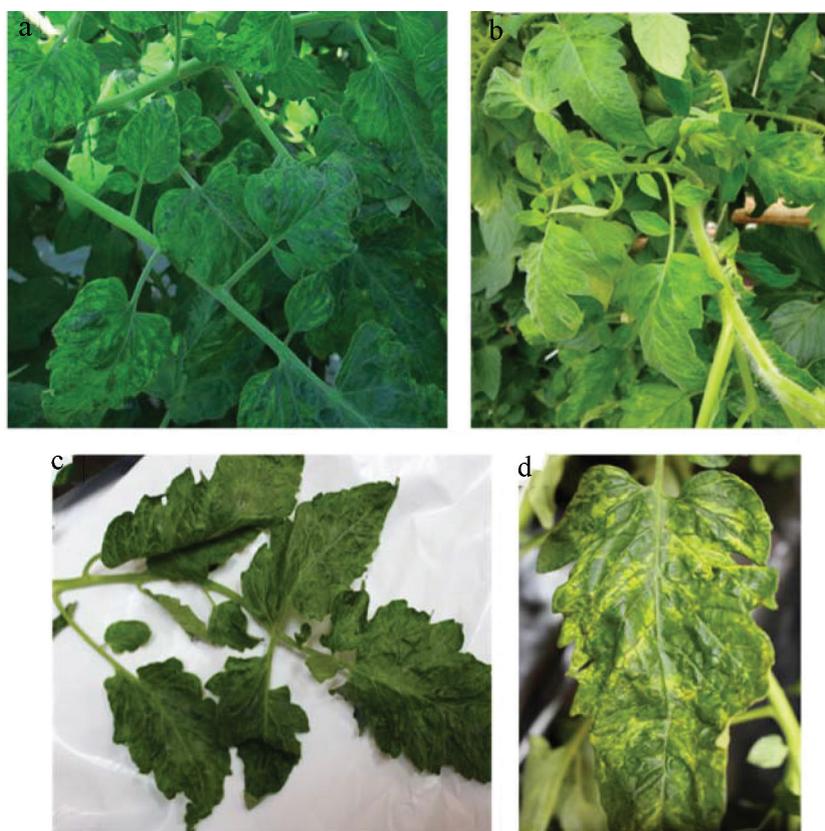


Рис. 1. Симптомы проявления ВМПеп на растениях томата: *a* – Жеронимо F1 (2012 г.), *b* – Раиса F1 (2019 г.); *c*, *d* – Тореро F1 (2017 г.)

Fig. 1. Symptoms PepMV on tomato plants: *a* – Zheronimo F1 (2012), *b* – Raissa F1 (2019); *c*, *d* – Torero F1 (2017)

В 2013 г. ВМПеп вновь идентифицирован в растениях Тореро F1 и Жеронимо F1, в 2014 г. – у Тореро F1 и Прунус F1, в 2017 г. – у Тореро F1, в 2019 г. – у Тореро F1, Раиса F1, Баловень F1, Киву F1 и Фаворит F1 (табл. 1).

Таблица 1. Идентификация инфицированности ВМПеп гибридов томата защищенного грунта (по данным исследований методом ИФА)

Table 1. Identification of protected ground hybrids infection by PepMV (results of ELISA-test)

Год	Гибрид (F1)	Идентифицированный вирус
2012	Тореро	ВМПеп
	Жеронимо	ВМПеп, ВМПеп + ВОМ, ВМПеп + ВМТо
	Раиса	ВМПеп, ВМПеп + НКПТ
	Евпатор	ВМПеп, ВМПеп + ВТП
	Старбак	ВМПеп, ВМПеп + НКПТ
2013	Тореро	ВМПеп
	Жеронимо	ВМПеп
2014	Тореро	ВМПеп + ВОМ
	Прунус	ВМПеп, ВМПеп + ВТМ
2017	Тореро	ВМПеп, ВМПеп + ВМТо + ВОМ
2019	Тореро	ВМПеп, ВМПеп + ВТМ, ВМПеп + ВОМ, ВМПеп + ВМТо + ВОМ, ВМПеп + ВТМ + ВОМ, ВМПеп + ВМТо + ВТМ + ВОМ
	Раиса	ВМПеп + ВТМ
	Баловень	ВМПеп
	Киву	ВМПеп + ВТМ
	Фаворита	ВМПеп + ВМТо + ВОМ

Примечание. ВМПеп – вирус мозаики пепино, ВОМ – вирус огуречной мозаики, ВМТо – вирус мозаики томата, ВТМ – вирус мозаики табака, ВТП – вирус погрелковости табака, НКПТ – неповирус кольцевой пятнистости табака.

Следует отметить, что в некоторых растительных образцах выявлена комплексная инфекция ВМПеп в комбинации с возбудителями из родов *Cucumovirus*, *Tobamovirus*, *Nepovirus* и *Tobravirus* [26]. Возможность инфицирования вирусом растений томата в комплексе с другими патогенами отмечается в работах многих авторов. Так, в томатах черри ВМПеп выявляли совместно с вирусом огуречной мозаики и вирусом мозаики томата [27]. Поскольку в условиях смешанных инфекций патологическое действие вирусов обусловлено не только характером взаимодействия их с растением-хозяином, но и взаимоотношениями между собой, то факт выявления нами вируса пепино в комбинационной группе требует более детального изучения специфики накопления и транслокации возбудителя в зависимости от состава инфекции.

По результатам биологического тестирования на 8 видах растений из 10 инфицированных проявились симптомы, которые соответствовали характеру проявления ВМПеп, описанному в литературных источниках [28]. Так, на растениях *Nicotiana* spp., *D. stramonium* и *C. annuum* отмечалась различная мозаика, на *L. esculentum* и *Ph. pruinosa* – деформация и хлоротичное поражение листьев, на *Ph. vulgaris* – пятнистость листьев (табл. 2, рис. 2). Следует отметить, что на растениях *N. glutinosa* инфекция носила латентный характер.

Симптомы заражения возбудителем отсутствовали на огурце (*C. sativus*) и тыкве (*C. pepo*), при проведении тестирования образцов методом ИФА в разные сроки вирус также не выявлен.

По данным ИФА установлено, что ВМПеп более интенсивно накапливается в растениях *D. stramonium* и *N. rustica*, в которых содержание вирусных частиц спустя 4 недели после заражения достигало 1,013 и 0,952 ед. опт. пл., спустя 20 недель – более 3,1 ед. опт. пл. (табл. 2). В растениях *L. esculentum* и *C. annuum* высокий показатель концентрации вируса отмечали только через 20 недель после инокуляции.

Таблица 2. Симптомы проявления и накопление ВМПеп в тест-растениях (лабораторный опыт, 2019 г.)

Table 2. Symptoms and accumulation of PepMV in test plants (laboratory experiment, 2019)

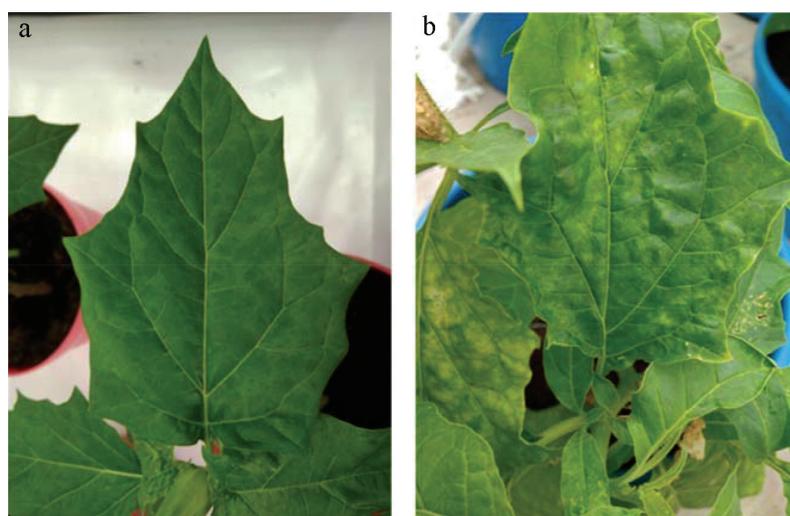
Вид и сорт тест-растения	Симптомы проявления	ИФА, ед. опт. пл.	
		после 4 недель	после 20 недель
<i>Solanaceae</i>			
<i>Nicotiana tabacum</i> L. (Samsun)	clm	0,448	0,558
<i>N. glutinosa</i> L.	ns	0,245	0,642
<i>N. rustica</i> L.	ml	0,952	2,448
<i>Datura stramonium</i> L.	sm	1,013	3,263
<i>Capsicum annuum</i> L. (Алеся)	ml	0,187	3,130
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. (Ляна)	dis, lc	0,365	3,131
<i>Physalis pruinosa</i> L. (Янтарь)	dis	0,158	0,335
<i>Leguminoceae</i>			
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. (Мотольская белая)	sp	0,215	0,410
<i>Cucurbitaceae</i>			
<i>Cucumis sativus</i> L. (Верасень)	ns	0,143	0,128
<i>Cucurbita pepo</i> var. <i>clupeata</i> Mill. (Малышка)	ns	0,135	0,111
+К (положительный контроль)		2,940	2,413
–К (отрицательный контроль)		0,165	0,134

Примечание. Clm – хлоротичная мозаика, ns – симптомы отсутствуют, ml – мягкая мозаика, s – системное поражение, m – мозаика, dis – деформация листьев, lc – хлоротичное поражение, sp – пятнистость.

Результаты исследований позволяют рекомендовать *D. stramonium*, *N. rustica* в качестве накопителей ВМПеп для последующего выделения и использования в разработках иммунохроматографических тестов.

Из литературных источников известно, что ВМПеп является высококонтагиозным, так как эффективно передается механически и насекомыми (шмели, тля, четырехногие клещи) [29].

Для установления внутривидовой (томат→томат (гибрид Ивановец), перец→перец (сорт Алеся), дурман→дурман) и межвидовой (дурман→томат, дурман→перец, дурман→табак) инфекционности ВМПеп были проведены лабораторные опыты, в ходе которых использовали насекомых-переносчиков и применяли штамм PepMV-V17, выделенный нами в 2017 г.

Рис. 2. Реакция *Datura stramonium* L. на заражение ВМПеп спустя 4 (a) и 20 (b) недель после зараженияFig. 2. *Datura stramonium* L. reaction on PepMV infection in 4 (a) and 20 weeks (b) after infection

Состав филофагов овощных культур защищенного грунта на территории республики представлен широким спектром вредителей [30]. С целью оценки возможного переноса ВМПеп векторным путем нами выбраны бахчевая тля, тепличная белокрылка, а также западный цветочный трипс, для которых ранее была установлена способность передачи других видов вирусов [31].

Результаты исследований показали, что все фитофаги способны участвовать в распространении и передаче ВМПеп. Однако время проявления, симптоматика и развитие инфекции различны для каждого из видов растений.

По данным ИФА, наилучшие показатели концентрации ВМПеп выявлены при его передаче западным цветочным трипсом по схеме томат→томат, дурман→томат, дурман→перец (табл. 3). Положительные результаты получены при заселении тепличной белокрылкой (схема переноса: томат→томат, дурман→дурман) и бахчевой тлей (схема переноса: перец→перец, дурман→дурман, дурман→томат).

Таблица 3. Оценка векторной передачи ВМПеп (лабораторный опыт, 2019 г.)

Table 3. Evaluation of PepMV vector transmission (laboratory experiment, 2019)

Кормовое растение → тест-растение	Результат переноса			ИФА, ед. опт. пл.		
	Бахчевая тля	Западный цветочный трипс	Тепличная белокрылка	Бахчевая тля	Западный цветочный трипс	Тепличная белокрылка
Томат→томат	+	+	+	0,215	0,699	0,712
Перец→перец	+	+	+	0,715	0,253	0,216
Дурман→дурман	+	–	+	0,190	0,125	3,260
Дурман→табак	–	+/-	+	0,112	0,196	0,365
Дурман→перец	+	+	+	2,784	1,806	0,185
Дурман→томат	+	+	+	3,220	0,914	0,452
+К (положительный контроль)				2,413		
-К (отрицательный контроль)				0,134		

Примечание. «+» – положительная реакция, «–» – симптомы отсутствуют, «+/-» – слабые симптомы заражения.

Полученные результаты важны для дальнейшего углубленного изучения вопроса о переносчиках ВМПеп, являющихся специализированными вредителями овощных культур защищенного грунта, разработки схем защиты в период вегетации культуры томата, а также для исследования биологических агентов (энтомофагов) как возможных векторов вируса, часто используемых в интегрированной системе защиты тепличных растений.

**Заключение.** Результаты исследований свидетельствуют об устойчивом циркулировании вируса мозаики пепино в посадках томата защищенного грунта, который выявляется и в гибридах более поздней интродукции (в 2019 г. их было 5 – Тореро F1, Раиса F1, Баловень F1, Киву F1 и Фаворит F1). В большинстве случаев ВМПеп идентифицировали в смешанной инфекции и в различных комбинациях с вирусными патогенами из родов *Cucumovirus*, *Tobamovirus*, *Nepovirus* и *Tobravirus*, что непосредственно могло влиять на симптомы проявления болезни при заражении растений.

Высокая восприимчивость растений *Datura stramonium* L., *Nicotiana rustica* L. при заражении изолятом РерMV-V17 позволяет в дальнейшем использовать их в качестве накопителей и тест-индикаторов для первичной диагностики ВМПеп.

Учитывая ранее доказанную высокую инфекционность ВМПеп, а также его способность распространяться с помощью насекомых-вредителей, риск влияния ВМПеп на качество и урожайность томата усиливается. Это определяет актуальность проведения дальнейших исследований по идентификации и биологии ВМПеп на других овощных культурах, выращиваемых в условиях защищенного грунта.

#### Список использованных источников

1. Hanssen, M. Emerging viral diseases of tomato crops / M. Hanssen, M. Lapidot, P. H. J. Thomma // Mol. Pl.-Mic. Interact. – 2010. – Vol. 23, N 5. – P. 539–548. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-5-0539>
2. EPPO A1 List of pests recommended for regulation as quarantine pests – version 2019-09 [Electronic resource]. – Mode of access: [https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant\\_quarantine/A1\\_list/](https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A1_list/) – Date of access: 19.09.2019.

3. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests – version 2019-09 [Electronic resource]. – Mode of access: [https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant\\_quarantine/A2\\_list/](https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list/) – Date of access: 19.09.2019.
4. ATS-протокол гигиенических мер для томатов / Agro Technical Supplies bv [Electronic resource]. – Mode of access: <http://horti-webshop.com/?lang=russia&page=358&id=c0c7c76d30bd3dcaefc96f40275bdc0a>. – Date of access: 05.03.2013.
5. *Pepino mosaic virus*: EPPO Standards PM 7/113 (1) // Bulletin. – 2013. – N 43. – P. 94–104.
6. First report of *Pepino mosaic virus* on natural hosts / C. Jorda [et al.] // Pl. Dis. – 2001. – Vol. 85, N 12. – P. 1292. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.12.1292D>
7. Martin, J. Potato varieties which are sensitive to the tomato strain of *Pepino mosaic virus* (PepMV) / J. Martin, C. Mousserion // Phytoma Défense Végétaux. – 2002. – Vol. 552. – P. 26–28.
8. Cordoba, M. C. New Natural Hosts of *Pepino mosaic virus* in Spain / M. C. Córdoba, Ll. Martínez-Priego, C. Jordá // Pl. Dis. – 2004. – Vol. 88, N 8. – P. 906. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.8.906D>
9. Verhoeven, J. T. J. High similarity between tomato isolates of *Pepino mosaic virus* suggests a common origin / J. T. J. Verhoeven, R. Vlugt, J. W. Roenhorst // Eur. J. Pl. Pathol. – 2003. – Vol. 109. – P. 419–425. <https://doi.org/10.1023/A:1024261121468>
10. Rudnieva, T. Virus diseases of vegetable crops in greenhouse conditions in Ukraine / T. Rudnieva // Вісн. Київ. Нац. ун-ту ім. Т. Шевченка. Сер. Біологія. – 2008. – Вип. 51. – С. 45–46.
11. Hasiow-Jaroszewska, B. New necrotic isolates of *Pepino mosaic virus* representing the Ch2 genotype / B. Hasiow-Jaroszewska, H. Pospieszny, N. Borodynko // J. Phytopathol. – 2009. – Vol. 157, N 7–8. – P. 494–496. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01496.x>
12. First report of two distinct strains of *Pepino mosaic virus* infecting tomatoes in greenhouses in Lithuania / D. Šneideris [et al.] // J. Pl. Pathol. – 2013. – Vol. 95, N 1. – P. 217–218. <https://doi.org/10.4454/JPP.V95I1.024>
13. Чанг, Н. Х. Т. К. Распространение и патогенез вирусных заболеваний томата в условиях Вьетнама и России : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.01.07 / Н. Х. Т. К. Чанг ; Рос. ун-т дружбы народов. – М., 2013. – 22 с.
14. Vectoring of *Pepino mosaic virus* by bumble-bees in tomato greenhouses / J. L. Shipp [et al.] // Ann. Appl. Biol. – 2008. – Vol. 153, N 2. – P. 149–155. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00245.x>
15. Detection, spread and interactions of *Pepino mosaic virus* and *Pythium aphanidermatum* in the root environment of tomato in hydroponics / D. Schwarz [et al.] // Acta Hort. – 2009. – Vol. 808. – P. 163–170. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.808.24>
16. Mumford, R. A. The practical sequencing of the genomic RNA of a UK isolate of *Pepino mosaic virus* and the comparison of the coat protein sequence with other isolates from Europe and Peru / R. A. Mumford, E. J. Metcalfe // Arch. Virol. – 2001. – Vol. 146, N 12. – P. 2455–2460. <https://doi.org/10.1007/s007050170015>
17. Lopez, C. Comparison of the complete sequences of three different isolates of *Pepino mosaic virus*: size variability of the TGBp3 protein between tomato and *Lycopersicon peruvianum* isolates / C. Lopez, S. Soler, F. Nuez // Arch. Virol. – 2005. – Vol. 150, N 3. – P. 619–627.
18. Ling, K.-S. Molecular characterization of two *Pepino mosaic virus* variants from imported tomato seed reveals high levels of sequence identity between Chilean and US isolates / K. Ling // Virus Genes. – 2007. – Vol. 34, N 1. – P. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11262-006-0003-x>
19. Effect of *Pepino mosaic virus* on the yield and quality of glasshouse grow tomatoes in the UK / N. J. Spense [et al.] // Pl. Pathol. – 2006. – Vol. 55, N 5. – P. 595–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01406.x>
20. Блоцкая, Ж. В. Вирусные болезни картофеля / Ж. В. Блоцкая. – Минск : Навука і тэхніка, 1993. – 222 с.
21. Власов, Ю. И. Методические указания по векторной передаче вирусов, поражающих сельскохозяйственные культуры / Ю. И. Власов, Т. П. Теплоухова, Э. И. Ларина. – Л. : ВНИИ защиты растений, 1990. – 97 с.
22. Власов, Ю. И. Сельскохозяйственная фитовирусология / Ю. И. Власов, Э. И. Ларина, Э. В. Трускинов. – СПб. ; Пушкин : ФГБНУ «Всерос. НИИ защиты растений», 2016. – 236 с.
23. *Pepino mosaic virus* isolates and differential symptomatology in tomato / I. M. Hanssen [et al.] // Pl. Pathol. – 2009. – Vol. 58, N 3. – P. 450–460. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.02018.x>
24. Ratio of mutated versus wild-type coat protein sequences in *Pepino mosaic virus* determines the nature and severity of yellowing symptoms on tomato plants / B. Hasiow-Jaroszewska [et al.] // Mol. Pl. Pathol. – 2013. – Vol. 14, N 9. – P. 923–933. <https://doi.org/10.1111/mpp.12059>
25. Mixed infections of *Pepino mosaic virus* strains modulate the evolutionary dynamics of this emergent virus / P. Gómez [et al.] // J. Virol. – 2009. – Vol. 83, N 23. – P. 12378–12387. <https://doi.org/10.1128/JVI.01486-09>
26. International Committee on Taxonomy of Viruses [Electronic resource]. – Mode of access: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>. – Date of access: 12.09.2019.
27. Efthimiou, K. E. First report of *Pepino mosaic virus* infecting greenhouse cherry tomatoes in Greece / K. E. Efthimiou [et al.] // Pl. Dis. – 2011. – Vol. 95, N 1. – P. 78. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0643>
28. Salamone, A. Host range, seed transmission and detection by ELISA and lateral flow of an Italian isolate of *Pepino mosaic virus* / A. Salomone, P. Roggero // Pl. Pathol. – 2002. – Vol. 84, N 1. – P. 65–68. <https://doi.org/10.4454/jpp.v84i1.1088>
29. Фоминых, Т. С. Диагностика вирусных, виroidных и фитоплазменных болезней овощных культур и картофеля : учеб.-метод. пособие / Т. С. Фоминых, Д. З. Богоутдинов. – СПб. ; Пушкин : ФГБНУ «Всерос. НИИ защиты растений», 2017. – 96 с.

30. Долматов, Д. А. Особенности формирования комплексов вредных членистоногих в посадках овощных культур защищенного грунта в Беларуси / Д. А. Долматов, И. А. Прищепа // Защита растений в условиях закрытого грунта: перспективы XXI века : информ. бюл. № 41 МОББ/ВППС, посвящ. 40-летию образования Ин-та защиты растений, Беларусь / ред. : Д. Сосновска [и др.]. – Несвиж, 2010. – С. 108–126.

31. Гнупова, Р. В. Таксономия вирусов растений Дальнего Востока России / Р. В. Гнупова. – Владивосток : Дальнаука, 2009. – 465 с.

## References

1. Hanssen M., Lapidot M., Thomma P. H. J. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, vol. 23, no. 5, pp. 539–548. <https://doi.org/10.1094/MPMI-23-5-0539>
2. EPPO A1 List of pests recommended for regulation as quarantine pests – version 2019-09. Available at: [https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant\\_quarantine/A1\\_list/](https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A1_list/) (accessed 19.09.2019).
3. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests – version 2019-09. Available at: [https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant\\_quarantine/A2\\_list/](https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list/) (accessed 19.09.2019).
4. ATS – Protokool gigiyenicheskikh mer dlya tomatov (*Agro Technical Supplies*) Available at: <http://horti-webshop.com/?lang=russia&page=358&id=c0c7c76d30bd3dcaefc96f40275bdc0a/> (accessed 05.03.2013).
5. *Pepino mosaic virus*: EPPO Standards PM 7/113 (1). *Bulletin*, 2013, no. 43, pp. 94–104.
6. Jorda C., Lazaro Perez A., Martine Culebras P. V., Lacasa A. First report of *Pepino mosaic virus* on natural hosts. *Plant Disease*, 2001, vol. 85, no. 12, p. 1292. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.12.1292D>
7. Martin J., Mousserion C. Potato varieties which are sensitive to the tomato strain of *Pepino mosaic virus* (PepMV). *Phytoma Défense Végétaux*, 2002, vol. 552, pp. 26–28.
8. Cordoba M. C., Martínez-Priego L., Jordá C. New natural hosts of *Pepino mosaic virus* in Spain. *Plant Diseases*, 2004, vol. 88, no. 8, p. 906. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.8.906D>
9. Verhoeven J. T. J., Vlugt R., Roenhorst J. W. High similarity between tomato isolates of *Pepino mosaic virus* suggests a common origin. *European Journal Plant Pathology*, 2003, vol. 109, pp. 419–425. <https://doi.org/10.1023/A:1024261121468>
10. Rudnieva T. Virus diseases of vegetable crops in greenhouse conditions in Ukraine. *Visnik Kiïvs'kogo natsional'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka. Seriya Biologiya = Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Biology*, 2008, no. 51, pp. 45–46.
11. Hasiow-Jaroszewska B., Pospieszny H., Borodynko N. New necrotic isolates of *Pepino mosaic virus* representing the Ch2 genotype. *Journal Phytopathology*, 2009, vol. 157, no. 7–8, pp. 494–496. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01496.x>
12. Šneideris D., Žižītė M., Zitkaitė I., Urbanavičienė L., Staniulis J. First report of two distinct strains of *Pepino mosaic virus* infecting tomatoes in greenhouses in Lithuania. *Plant Pathology*, 2013, vol. 95, no. 1, pp. 217–218. <https://doi.org/10.4454/JPPV9511.024>
13. Chang N. Kh. T. K. *The spread and pathogenesis of tomato viral diseases in Vietnam and Russia*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2013. 22 p. (in Russian).
14. Shipp L., Buitenhuis R., Stobbs L., Wang K., Kim W.-S., Ferguson G. Vectoring of *Pepino mosaic virus* by bumblebees in tomato greenhouses. *Annals of Applied Biology*, 2008, vol. 153, no. 2, pp. 149–155. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00245.x>
15. Schwarz D., Paschek U., Bandte M., Büttner C., Obermeier C. Detection, spread and interactions of *Pepino mosaic virus* and *Pythium aphanidermatum* in the root environment of tomato in hydroponics. *Acta Horticulturae. II International Symposium on Tomato Diseases*, 2009, vol. 808, pp. 163–170. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.808.24>
16. Mumford R. A., Metcalfe E. J. The practical sequencing of the genomic RNA of a UK isolate of *Pepino mosaic virus* and the comparison of the coat protein sequence with other isolates from Europe and Peru. *Archives of Virology*, 2001, vol. 146, no. 12, pp. 2455–2460. <https://doi.org/10.1007/s007050170015>
17. Lopez C., Soler S., Nuez F. Comparison of the complete sequences of three different isolates of *Pepino mosaic virus*: size variability of the TGBp3 protein between tomato and *Lycopersicon peruvianum* isolates. *Archives of Virology*, 2005, vol. 150, no. 3, pp. 619–627.
18. Ling K.-S. Molecular characterization of two *Pepino mosaic virus* variants from imported tomato seed reveals high levels of sequence identity between Chilean and US isolates. *Virus Genes*, 2007, vol. 34, no. 1, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11262-006-0003-x>
19. Spense N. J., Basham J., Mumford R. A., Hayman G. Effect of *Pepino mosaic virus* on the yield and quality of glasshouse grow tomatoes in the UK. *Plant Pathology*, 2006, vol. 55, no. 5, pp. 595–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01406.x>
20. Blotskaya Zh. V. *Potato viral diseases*. Minsk, Navuka i tehnika Publ., 1993. 222 p. (in Russian).
21. Vlasov Yu. I., Teploukhova T. N., Larina E. I., Vlasov D. Yu. *Viral diseases of vegetables and melons cultural*. Leningrad, All-Russian Scientific Research Institute for Plant Protection, 1973. 72 p. (in Russian).
22. Vlasov Yu. I., Larina E. I., Truskinov E. V. *Agricultural of phyto-virology*. St. Petersburg, Pushkin, Federal State Budgetary Scientific Institution “All-Russian Scientific Research Institute for Plant Protection”, 2016. 236 p. (in Russian).
23. Hanssen I. M., Paeleman A., Vandewoestijne E., Van Bergen L., Bragard C., Lievens B., Vanachter A. C. R. C., Thomma B. P. H. J. *Pepino mosaic virus* isolates and differential symptomatology in tomato. *Plant Pathology*, 2009, vol. 58, no. 3, pp. 450–460. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.02018.x>

24. Hasiow-Jaroszewska B., Paeleman A., Ortega-Parra N., Borodynko N., Minicka J., Czerwoniec A., Thomma B. P., Hanssen I. M. Ratio of mutated versus wild-type coat protein sequences in *Pepino mosaic virus* determines the nature and severity of yellowing symptoms on tomato plants. *Molecular Plant Pathology*, 2013, vol. 14, no. 9, pp. 923–933. <https://doi.org/10.1111/mpp.12059>

25. Gómez P., Sempere R. N., Elena S. F., Aranda M. A. Mixed infections of *Pepino mosaic virus* strains modulate the evolutionary dynamics of this emergent virus. *Journal of Virology*, 2009, vol. 83, no. 23, pp. 12378–12387. <https://doi.org/10.1128/JVI.01486-09>

26. *International Committee on Taxonomy of Viruses*. Available at: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> (accessed 19.09.2019).

27. Efthimiou K. E., Gatsios A. P., Aretakis K. C., Papayiannis L. C., Katis N. I. First report of *Pepino mosaic virus* infecting greenhouse cherry tomatoes in Greece. *Plant Diseases*, 2011, vol. 95, no. 1, p. 78. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0643>

28. Salamone A., Roggero P. Host range, seed transmission and detection by ELISA and lateral flow of an Italian isolate of *Pepino mosaic virus*. *Journal of Plant Pathology*, 2002, vol. 84, no. 1, pp. 65–68. <https://doi.org/10.4454/jpp.v84i1.1088>

29. Fominykh T. S., Bogoutdinov D. Z. *Diagnosis of viral, viroid and phytoplasmic diseases of vegetable crops and potatoes: textbook methodical*. St. Petersburg, Pushkin, Federal State Budgetary Scientific Institution “All-Russian Scientific Research Institute for Plant Protection”, 2017. 96 p. (in Russian).

30. Dolmatov D. A., Prishchepa I. A. Features of the formation of complexes of harmful arthropods in plantings of vegetable crops of protected ground in Belarus. *Zashchita rastenii v usloviyakh zakrytogo grunta: perspektivy XXI veka: informatsionnyi byulleten' no. 41 MOBB/VPRS, posvyashchennyi 40-letiyu obrazovaniya Instituta zashchity rastenii, Belarus'* [Plant protection under protected ground conditions: perspectives of the XXI century: information bulletin no. 41 MOBB / VPRS, dedicated to the 40th anniversary of the establishment of the Institute for Plant Protection, Belarus]. Nesvizh, 2010, pp. 108–126 (in Russian).

31. Gnutova R. V. *Taxonomy of plant viruses in the Russian Far East*. Vladivostok, Dal'nauka Publ., 2009. 465 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Вабищевич Виктория Викторовна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт защиты растений (ул. Мира, 2, 223011, а/г Прилуки, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: [deprik@yandex.ru](mailto:deprik@yandex.ru)

*Волчкевич Ирина Георгиевна* – канд. с.-х. наук, заведующий лабораторией. Институт защиты растений (ул. Мира, 2, 223011, а/г Прилуки, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: [onionprotect@yandex.by](mailto:onionprotect@yandex.by)

*Конопатская Марина Владимировна* – науч. сотрудник. Институт защиты растений (ул. Мира, 2, 223011, а/г Прилуки, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: [bmarinaw@yandex.by](mailto:bmarinaw@yandex.by)

### Information about the authors

*Viktoria V. Vabishchevich* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Plant Protections (2, Mir Str., 223011, a/c Priluki, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: [deprik@yandex.ru](mailto:deprik@yandex.ru)

*Irina G. Vauchkevich* – Ph. D. (Agricult.), Head of the Laboratory. Institute of Plant Protections (2, Mir Str., 223011, a/c Priluki, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: [onionprotect@yandex.by](mailto:onionprotect@yandex.by)

*Marina V. Kanapatskaya* – Researcher. Institute of Plant Protections (2, Mir Str., 223011, a/c Priluki, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: [bmarinaw@yandex.by](mailto:bmarinaw@yandex.by)

ISSN 1029-8940 (Print)  
ISSN 2524-230X (Online)  
УДК 551.583; 581.5  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-441-453>

Поступила в редакцию 05.11.2019  
Received 05.11.2019

**М. В. Ермохин**

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

## ДЕНДРОХРОНОЛОГИЧЕСКОЕ РАЙОНИРОВАНИЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В БЕЛАРУСИ

**Аннотация.** Проанализированы особенности динамики прироста деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в разных регионах Беларуси и влияние на него климатических факторов. На основании выявленных закономерностей впервые в республике разработано дендрохронологическое районирование сосны обыкновенной. Выделено 3 области и 7 районов, для которых построены мастер-хронологии протяженностью от 98 до 170 лет. Основными климатическими факторами, от которых зависит прирост деревьев сосны на территории Беларуси, являются температуры зимних месяцев, марта и апреля, а также количество осадков в июне и июле. Установлено достоверное снижение влияния на прирост деревьев количества осадков в вегетационный сезон с юга на север с одной стороны и усиление влияния весенних и зимних температур – с другой.

**Ключевые слова:** сосна обыкновенная, годичные кольца, климат, районирование, Беларусь

**Для цитирования:** Ермохин, М. В. Дендрохронологическое районирование сосны обыкновенной в Беларуси / М. В. Ермохин // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 441–453. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-441-453>

**Maxim V. Yermokhin**

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

## DENDROCHRONOLOGICAL ZONING OF SCOTS PINE IN BELARUS

**Abstract.** The features of the increment dynamics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in different regions of Belarus and the influence of climatic factors on it were analyzed. The dendrochronological zoning of Scots pine in Belarus (3 regions, 7 districts) has been developed for the first time on the basis of the identified responses. Master chronologies (98–170 years) were built for each from 7 dendrochronological districts. The temperatures of the winter months, March and April, as well as the amount of precipitations in June and July are the main climatic factors that determine the growth of pine in Belarus. It was established a significant decrease in the impact of precipitation during growing seasons on the tree increment from south to north on the one hand and an increase in the impact of spring and winter temperatures on the other.

**Keywords:** Scots pine, tree-rings, climate, zoning, Belarus

**For citation:** Yermokhin M. V. Dendrochronological zoning of Scots pine in Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 441–453 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-441-453>

**Введение.** Климатические изменения последних десятилетий до сих пор являются предметом споров ученых. Одни из них настаивают на антропогенной природе парникового эффекта, другие – на естественности этого процесса. В любом случае все они сходятся в том, что эти изменения влекут за собой серьезные последствия во многих сферах жизни человека [1, 2].

Деревья, являясь одними из наиболее долгоживущих организмов на Земле, зачастую обладают достаточной устойчивостью и пластичностью, чтобы адаптироваться к происходящим изменениям. В годичных кольцах деревьев отражаются все изменения, происходящие в окружающей среде, что позволяет использовать их в том числе и для климатических реконструкций и прогнозов.

Определенную проблему при дендроклиматических исследованиях в условиях климата умеренных широт создает отсутствие четко выраженных внешних факторов, лимитирующих прирост деревьев. Большая протяженность территории Беларуси (560 км с севера на юг и 650 км

с запада на восток) обуславливает большие различия в теплообеспеченности и количестве осадков разных регионов. Так, продолжительность вегетационного сезона в северо-восточной части Беларуси на несколько недель меньше, чем в юго-западной, а летние засухи, которые практически ежегодно отмечаются на юге Беларуси, в северной части бывают не каждый год [2]. По территории Беларуси проходит граница между евразийской таежной зоной и зоной европейских широколиственных лесов [3]. Поэтому логично предположить, что, несмотря на отсутствие жестких лимитирующих факторов, прирост деревьев в южных и северных регионах Беларуси должен отличаться.

Ключевыми факторами в формировании прироста деревьев на территории Беларуси выступают колебания количества летних осадков, ранневесенних и летних температур воздуха [4–7]. Так, для южной Беларуси на примере суходольных насаждений Беловежской пуши установлена положительная связь прироста сосны с июньскими и июльскими осадками и ранневесенними температурами воздуха, отрицательная – с майскими и июньскими температурами [7]. В северной части Беларуси значимую роль в формировании прироста играют температуры зимних месяцев [4, 8].

Учитывая имеющиеся отличия в реакции древесных видов на климатические факторы в разных регионах, а также разнообразие локальных факторов в условиях интенсивной хозяйственной деятельности, достоверные модели связи «климат – прирост» могут быть разработаны только с использованием регионального подхода и построением мастер-хронологий, которые объединяют большое количество деревьев из однородного региона. Для этого необходимо выделить регионы со схожей реакцией древесных видов на климатические факторы (дендроклиматическое или дендрохронологическое районирование) [9–11]. Для сопредельных территорий предварительное районирование по различным видам было сделано в Литве [9] и Польше [12–14].

Наилучшие возможности для разработки дендрохронологического районирования Беларуси представляет сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), которая произрастает в Беларуси в широком диапазоне экологических условий. Это позволяет подобрать объекты, схожие по лесотипологическим условиям, но расположенные в разных регионах. Первые попытки такого районирования были предприняты в 2012 г. [15]. Предварительный анализ древесно-кольцевых хронологий (ДКХ) сосны показал, что на территории Беларуси можно выделить 6 основных дендрохронологически однородных регионов. Имеющиеся на тот момент материалы (43 ДКХ) не позволяли в полной мере достоверно очертить границы этих регионов. Тем не менее было показано, что корреляция между ДКХ сосны является недостоверной на расстоянии более 400 км, а однородные регионы должны иметь протяженность 150–200 км.

Цель данной работы – на основании обширного дендрохронологического материала разработать дендрохронологическое районирование территории Беларуси с использованием деревьев сосны обыкновенной, построить мастер-хронологии для каждого дендрохронологического района и выявить основные климатические факторы, обуславливающие погодичную изменчивость прироста деревьев в каждом из них.

**Объекты и методы исследования.** Для разработки дендрохронологического районирования Беларуси использованы 110 ДКХ сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) из мшистого (*Pinetum pleuroziosum*) (94 ДКХ), орлякового (*Pinetum pteridiosum*) (14 ДКХ) и кисличного (*Pinetum oxalidosum*) (2 ДКХ) типов леса (рис. 1). Из них 7 ДКХ расположены на территории Украины, что позволило уточнить границы дендрохронологических районов в южной части Беларуси. Каждая ДКХ содержит не менее 20 деревьев I–II класса Крафта (всего 2872 дерева).

Такое количество модельных деревьев обеспечивает высокую достоверность результатов при расчетах средней ширины годичных колец [16]. Измерение ширины годичных колец выполнено по отсканированному изображению в программном обеспечении ArcGIS с точностью 0,01 мм. При наличии годичных колец шириной менее 0,5 мм или невозможности их достоверной идентификации по изображению их измерение выполнено с использованием бинокулярного микроскопа MicrosMZ1000. Для каждого дерева из двух измеренных кернов получали усредненный ряд.

Перекрестное датирование, выявление ложных и выпавших колец проведено с использованием кросскорреляционного анализа [17]. Взаимосвязь между ДКХ оценивали с помощью *t*-кри-

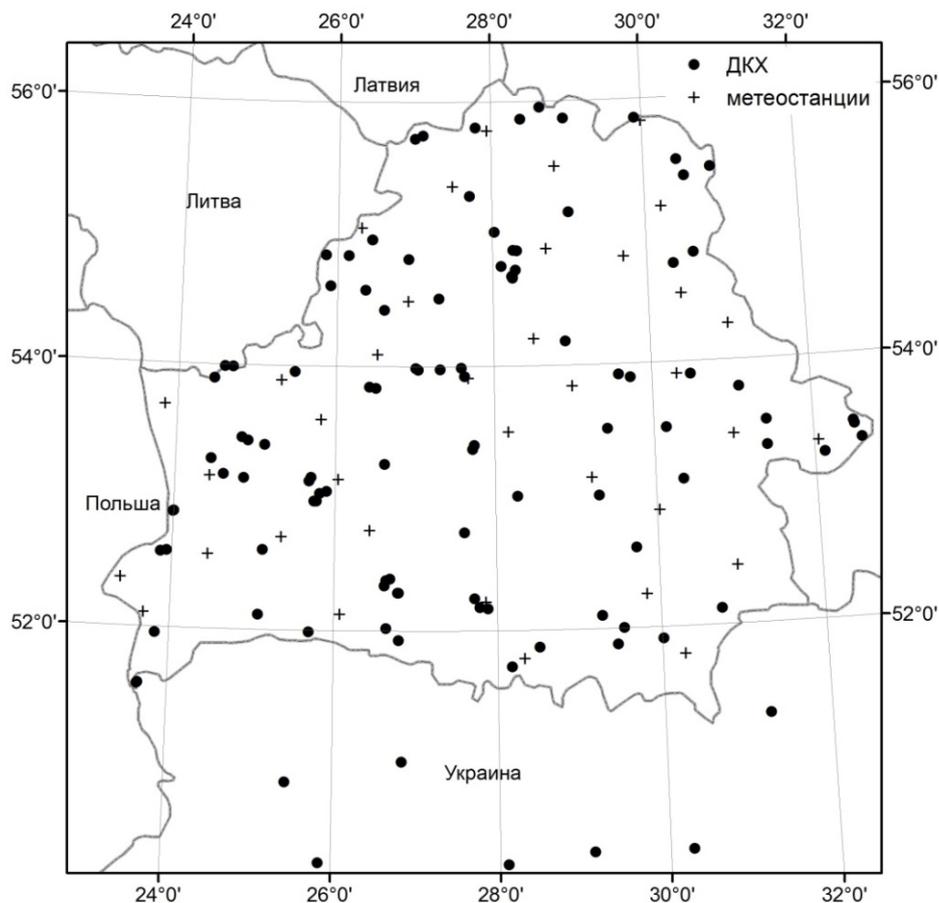


Рис. 1. Схема размещения древесно-кольцевых хронологий и метеостанций

Fig. 1. Location of the tree-ring chronologies and weather stations

терия [18]. Перекрестное датирование отдельных серий годовых колец и ДКХ выполняли в программе COFESHA 6.06P [19].

Одним из основных методических приемов дендрохронологии для выявления изменчивости прироста годовых колец, обусловленной экзогенным воздействием, является стандартизация значений абсолютного радиального прироста [20]. Она проводилась для каждого дерева с дальнейшим усреднением индексов по пробной площади и построением стандартизированной ДКХ (STD). Для сглаживания возрастных кривых отдельных деревьев использованы линейная или экспоненциальная кривые, а также функция Хагершофа, разработанная специально для сглаживания возрастной кривой в приросте деревьев. В отдельных случаях для сглаживания использована сплайн-функция с заданным окном сплайна и уровнем подавления дисперсии 50 %. Расчеты кривых для элиминирования возрастных трендов, индексов прироста и авторегрессионное моделирование выполнены в программе ARSTAN40c [19]. Для количественной характеристики годовых колебаний прироста использован коэффициент чувствительности, введенный в дендрохронологию А. Е. Дуглассом [21].

Границы дендрохронологических регионов определяли по результатам кластерного анализа всей совокупности ДКХ и их корректировки с учетом особенностей пространственного положения объектов. Для анализа использованы индексы стандартизированных хронологий за период 1946–2005 гг., перекрываемый всеми ДКХ. Для уточнения границ районов были использованы также 7 ДКХ сосны, построенных в 1990-е годы (анализируемый период 1946–1995 гг.).

Мастер-хронологии строили для каждого дендрохронологического района аналогично построению ДКХ для каждого объекта, но исходными данными служили уже не отдельные серии годовых колец, а готовые ДКХ.

Для анализа климатических данных и разработки функций отклика использованы данные о месячной сумме осадков и среднемесячных температурах воздуха для 37 метеорологических станций (рис. 1) за период с 1949 по 2016 г. Анализ выполнен в программе RESPO [19].

**Результаты и их обсуждение.** Увеличение расстояния между ДКХ и, соответственно, изменение климатических условий приводят к снижению тесноты связи между ДКХ. Высокая теснота связи (средний  $t$ -критерий более 5,0) в среднем сохраняется в большинстве случаев на расстоянии до 100 км и описывается логарифмической кривой (рис. 2). Значимая теснота связи сохраняется на расстоянии до 200 км и только в отдельных случаях – на большем расстоянии.

Наибольшее расстояние между исследованными ДКХ составляло 680 км. Это оказалось более чем достаточно для наших исследований, поскольку уже на расстоянии более 200 км связь между ДКХ в среднем снижается до недостоверных значений (средний  $t$ -критерий менее 4,0). В то же время даже на расстоянии до 100 км в отдельных случаях между ДКХ может быть низкая корреляция. В первую очередь это связано с интенсивной хозяйственной деятельностью на территории Беларуси и антропогенным вмешательством в естественную динамику насаждений. Это приводит к рассинхронизации прироста после проведения рубок ухода, уборки захламленности и пр., что лишний раз подтверждает необходимость использования мастер-хронологий в дендроклиматических исследованиях.

Кроме того, поскольку климатические параметры различных месяцев изменяются не синхронно на территории Беларуси, можно ожидать, что теснота связи между ДКХ может изменяться нелинейно при продвижении с севера на юг или с запада на восток. С целью проверки этой гипотезы был проведен геопространственный анализ тесноты связи между ДКХ. Для этого из всех ДКХ была построена одна мастер-хронология, а затем рассчитаны коэффициенты корреляции с ней каждой ДКХ (рис. 3).

Наибольшей корреляцией с мастер-хронологией отличаются ДКХ деревьев из окрестностей Новогрудской возвышенности. Во многом это обусловлено тем, что в этой части Беларуси наибольшая густота модельных объектов. В южной, юго-западной и западной частях Беларуси корреляция между ДКХ при движении на юг и на запад снижается гораздо быстрее (в 1,5 раза), чем в северной и восточной частях Беларуси. Это свидетельствует о том, что в южных и западных регионах Беларуси градиент изменения факторов, лимитирующих прирост, гораздо выше, чем в северной и восточной Беларуси.

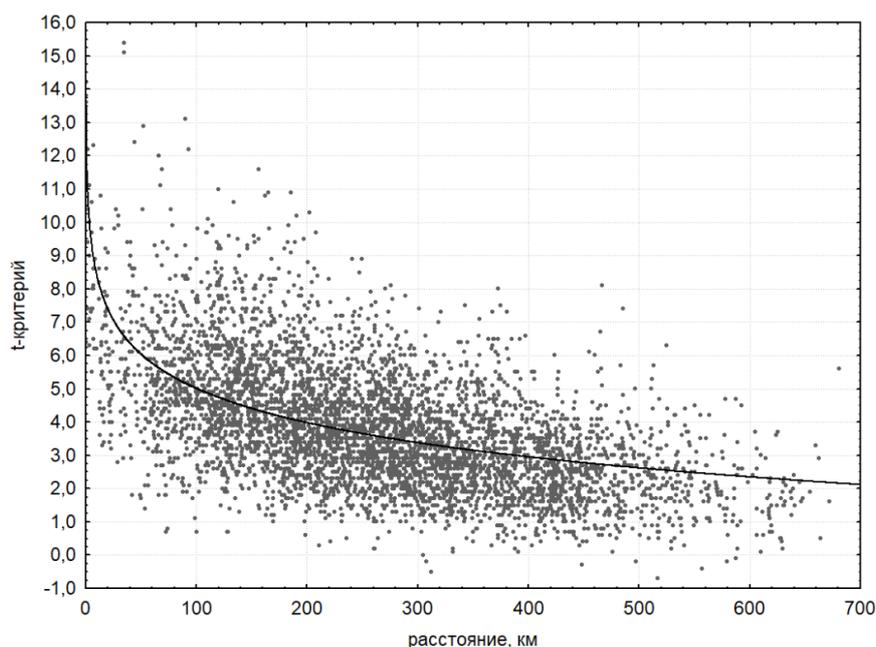


Рис. 2. Зависимость тесноты связи ( $t$ -критерий) между хронологиями сосны от расстояния между ними

Fig. 2. Dependence of  $t$ -value between pine chronologies from the distance between them

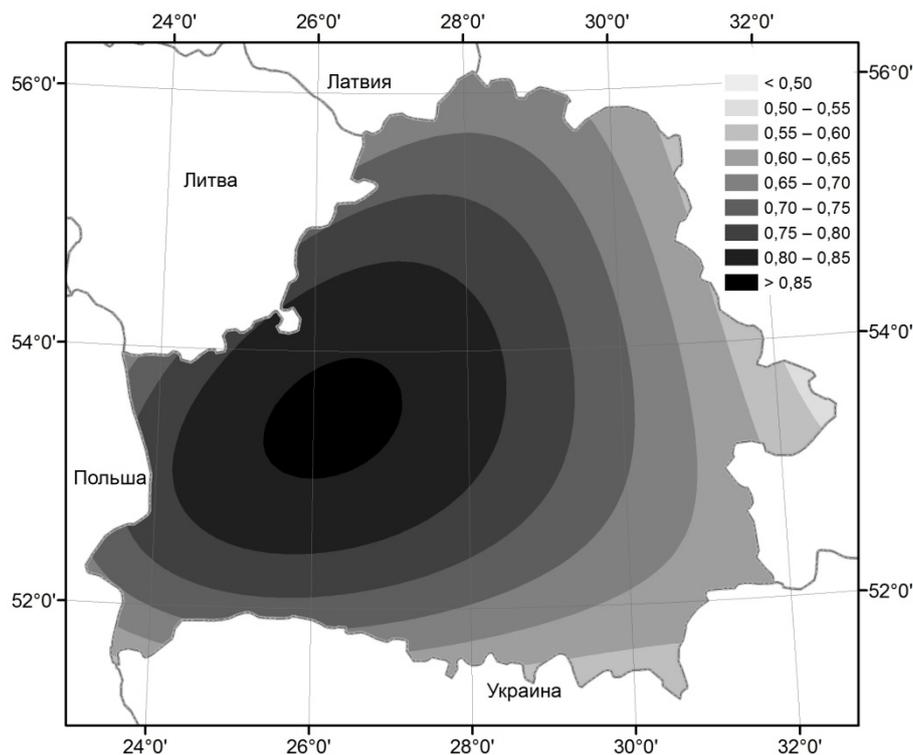


Рис. 3. Коэффициент корреляции древесно-кольцевых хронологий сосны с мастер-хронологией, построенной для всей территории Беларуси

Fig. 3. Correlation between pine tree-ring chronologies and master chronology built for the whole territory of Belarus

Наши исследования последних лет показали, что в южных регионах Беларуси чувствительность ДКХ ели европейской гораздо выше, чем в северных [22]. Геопространственный анализ коэффициента чувствительности для ДКХ сосны показывает аналогичные результаты: четко выражен градиент повышения их чувствительности с севера на юг на территории Беларуси (рис. 4).

Средний коэффициент чувствительности ДКХ сосны на автоморфных почвах составляет 0,18 и колеблется от 0,10 до 0,26. Наименьшей чувствительностью отличаются ДКХ сосны из северных регионов Беларуси, наибольшей – из юго-восточных. Таким образом, четко прослеживается широтная направленность, обусловленная в первую очередь температурным режимом летних месяцев. Периодические засухи в начале – середине вегетационного сезона чаще возникают в южных регионах Беларуси [2], что приводит к большой амплитуде колебаний прироста по соседним годам и, соответственно, к большей чувствительности ДКХ. Это хорошо объясняет и резкое изменение корреляции между ДКХ в южных регионах Беларуси.

Более высокая чувствительность ДКХ сосны, произрастающей на автоморфных почвах в южных регионах Беларуси, делает их в целом более пригодными для дендроклиматических реконструкций и прогнозов, чем ДКХ из северных регионов.

Для определения границ дендрохронологических районов предварительно был проведен кластерный анализ всей совокупности ДКХ сосны. По его результатам они были разделены на две большие группы: одна из них охватывает ДКХ из южной части республики (область III), а вторая – из центральной и северной (рис. 5). В пределах второй группы выделили две крупные группы хронологий: северную (область I) и центральную (область II). Затем, кластеризируя всю совокупность ДКХ методом К-средних, в каждой области выделили дендрохронологические районы, в которых прирост деревьев отличался исключительно высокой синхронностью. В результате территория Беларуси была разбита на 3 дендрохронологические области и 7 районов:

I – Северная область: Западно-Двинский район (Ia);

II – Центральная область: Неманский (IIa), Березинский (IIb), Днепро-Сожский (IIc) районы;

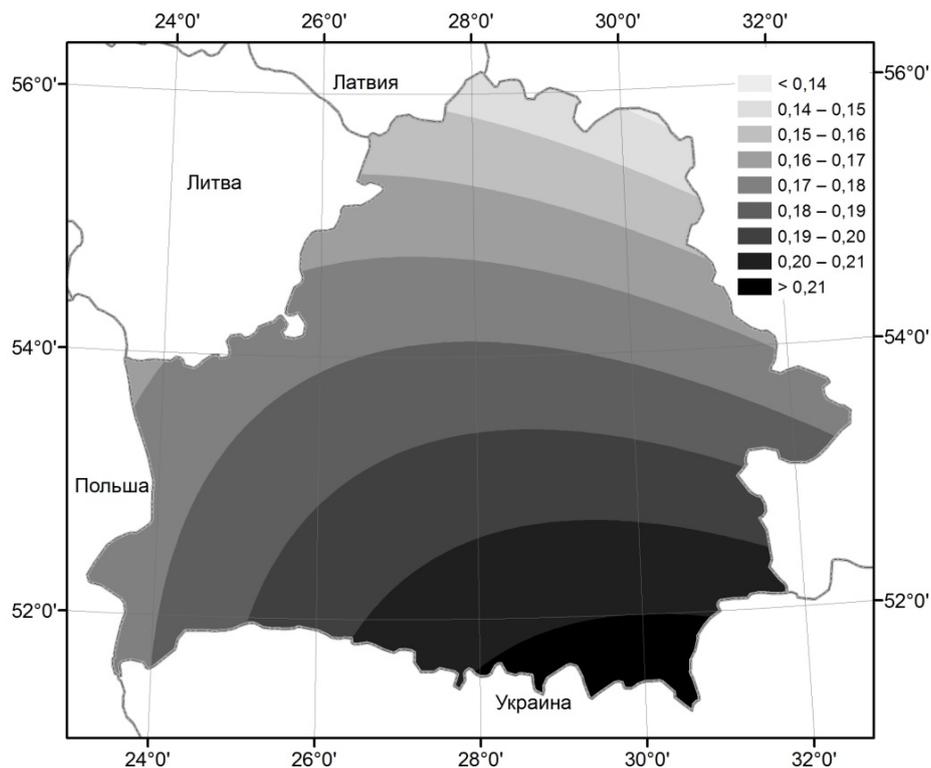


Рис. 4. Коэффициент чувствительности древесно-кольцевых хронологий сосны (на автоморфных почвах) на территории Беларуси

Fig. 4. Sensitivity of pine tree-ring chronologies (automorphic soils) in Belarus

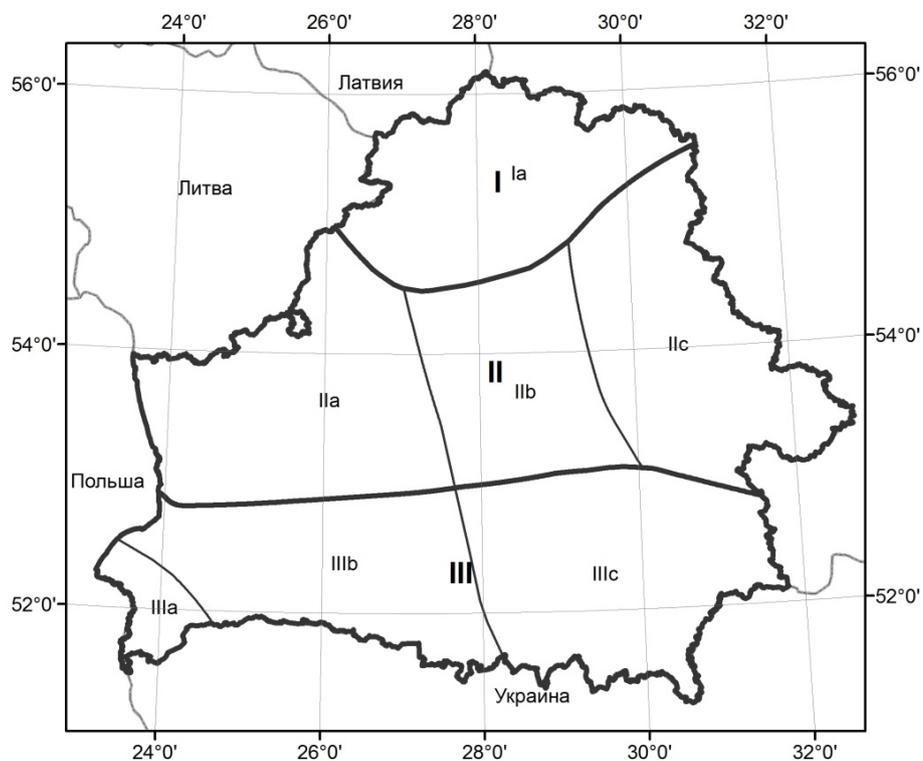


Рис. 5. Дендрохронологическое районирование Беларуси

Fig. 5. Dendrochronological zoning of Belarus

III – Южная область: Прибужский (IIIa), Среднеприпятский (IIIb), Припятско-Днепровский (IIIc) районы.

Согласно данным работы [23], границы дендрохронологических областей во многом схожи с границами агроклиматических областей, поскольку климат является одним из основных факторов, обуславливающих прирост деревьев, и повторяют направление изотерм вегетационного сезона, а границы районов – ближе к изотермам зимних месяцев [24].

Для каждого дендрохронологического района построены мастер-хронологии (см. таблицу, рис. 6) и функции отклика на климатические параметры (рис. 7), что позволило оценить особенности изменчивости прироста деревьев сосны в различных регионах Беларуси.

**Характеристика региональных мастер-хронологий**  
**Description of the regional master chronologies**

№ мастер-хронологии	К-во хронологий	К-во деревьев	Годы	Протяженность мастер-хронологии, лет	Стандартное отклонение	Коэффициент чувствительности	Коэффициент автокорреляции первого порядка	Дисперсия, объясненная функцией отклика, %
Ia	23	553	1857–2012	156	0,11	0,127	0,369	54,2
IIa	28	778	1842–2008	167	0,13	0,124	0,478	56,1
IIb	8	191	1876–2011	136	0,14	0,164	0,440	58,5
IIc	15	367	1884–2014	131	0,11	0,113	0,487	47,1
IIIa	3	69	1915–2012	98	0,17	0,193	0,395	48,4
IIIb	17	478	1845–2014	170	0,14	0,129	0,370	60,4
IIIc	8	204	1866–2010	145	0,13	0,147	0,364	56,0

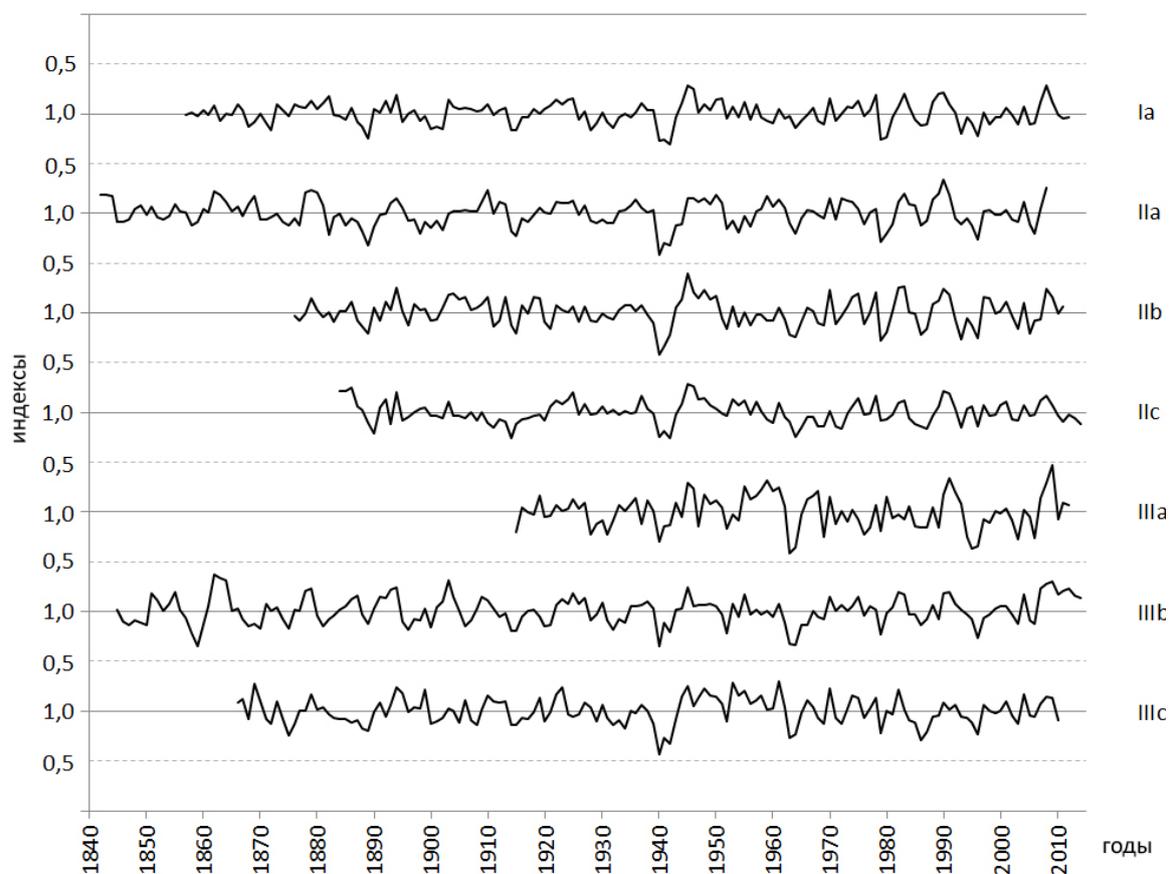


Рис. 6. Стандартизированные мастер-хронологии

Fig. 6. Standardized master chronologies

В большинстве дендроклиматических исследований погодичная изменчивость прироста связывается с температурным (на границах леса в горах или лесотундре) или гидрологическим режимом (в засушливых регионах). В умеренных же широтах отсутствует один четкий лимитирующий климатический фактор. Так, на территории Беларуси в приросте сосны четко выражено влияние и гидротермического режима вегетационного сезона, и зимних месяцев, но оно существенно различается по дендрохронологическим областям и районам.

В северной дендрохронологической области засухи в вегетационный период не достигают такой интенсивности, как в центральной и южной областях. Это обуславливает слабую положительную связь прироста с осадками и отрицательную с температурами летних месяцев (рис. 7). В то же время в центральной и северной областях отмечен очень большой вклад в прирост деревьев температур марта и апреля. Стабильное повышение температур воздуха в эти месяцы ведет к раннему наступлению вегетационного сезона и увеличению периода роста деревьев. Положительная корреляция прироста с температурами марта достигает 0,45–0,49, а с температурами апреля – 0,20–0,31. В южной области влияние температур апреля снижается, что обусловлено тем, что вегетационный сезон здесь, как правило, начинается раньше, чем в северных регионах. Средняя температура марта здесь выше или на доли градуса ниже 0 °С, в то время как в центральной области средняя температура марта составляет от –0,5 °С (Неманский район) до –1,7 °С (Днепро-Сожский район), а в северной – до –1,5 °С.

В южной дендрохронологической области, Неманском и Березинском районах центральной области выявлена четкая корреляция прироста с засухами в вегетационный сезон. Положительная корреляция с осадками июня достигает 0,44, а коэффициент функции отклика – 0,36. Одновременно в Прибужском и Припятско-Днепровском районах южной области наблюдается значимая отрицательная корреляция с температурами мая, связанная, как правило, с засухами в этот месяц.

Наиболее четкие связи прироста с климатическими факторами во всех мастер-хронологиях сосны на территории Беларуси выявлены для зимних месяцев. Особенно это касается температурного режима. Положительная корреляция прироста с температурами декабря, января и февраля составляет 0,24–0,43 в северной и центральной областях, 0,16–0,40 – в южной (рис. 7). Причем это влияние на величину прироста оказывается более высоким, чем влияние летних засух во всех районах, за исключением Прибужского и Среднеприпятского районов южной области. Аналогичные особенности отмечались для всех вечнозеленых хвойных видов деревьев, исследованных на территории Беларуси: сосны обыкновенной [7], ели европейской [22], пихты белой [25]. Для последней, которая в Беларуси находится за северо-восточной границей своего ареала, влияние зимних месяцев выражено в наибольшей степени. Для лиственных видов (дуб черешчатый, граб обыкновенный, осина, береза повислая, клен остролистный, липа мелколистная) такой зависимости не выявлено [25, 26].

Основная причина таких различий – особенности физиологии листопадных и вечнозеленых видов. Все исследованные лиственные виды деревьев на территории Беларуси относятся к листопадным, и при устойчивых отрицательных температурах в зимний период деревья находятся в состоянии покоя, расходуя часть запасенных углеводов на дыхание [27]. При повышении температуры воздуха усиливается и дыхание растений, что, вероятно, приводит к снижению их запасов к началу вегетационного сезона. Особенно это заметно при частых и продолжительных зимних оттепелях.

Вечнозеленые растения, к которым относятся исследованные хвойные виды, даже в зимний период могут осуществлять фотосинтез, что частично обеспечивает восстановление углеводов, затраченных на дыхание. По данным некоторых исследований, фотосинтез у деревьев ели отмечается до температуры –7 °С [28], у сосны – до –6 °С [29, 30]. При дальнейших понижениях температуры фотосинтез прекращается и для его восстановления требуется повышение температуры воздуха до +3–4 °С на несколько дней. Соответственно, теплые зимы с продолжительными оттепелями способствуют увеличению не только интенсивности дыхания у вечнозеленых древесных видов, но и фотосинтеза, который в определенной степени компенсирует расходы на дыхание. Это должно способствовать сохранению запасов углеводов на вегетационный сезон и более интенсивному приросту древесины в его первой половине.

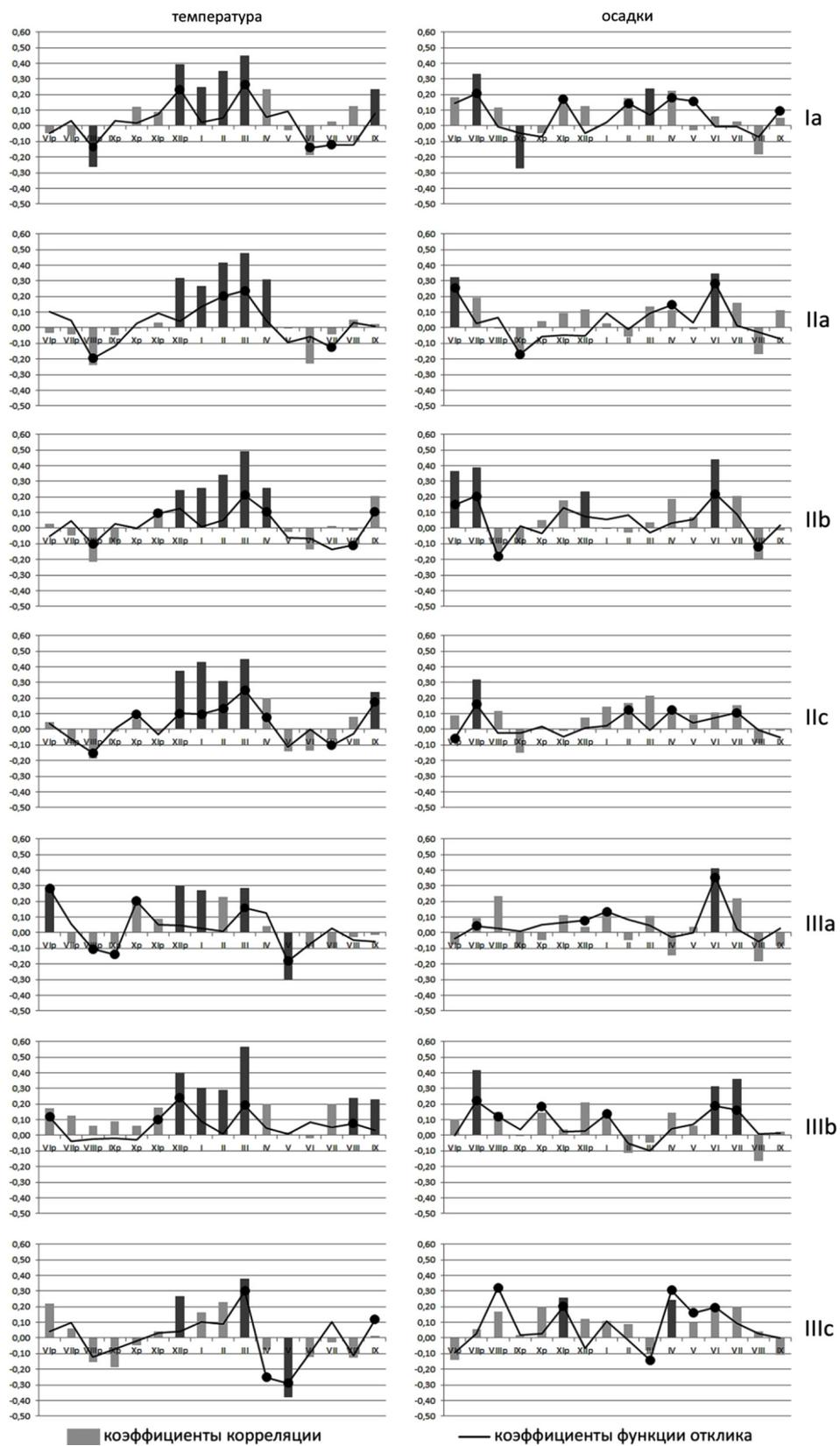


Рис. 7. Коэффициенты корреляции и функции отклика радиального прироста с месячными суммами осадков и среднемесячными температурами воздуха. Значимые при  $p < 0,05$  коэффициенты выделены темным цветом и маркерами. I, II...IX – месяцы текущего года, VIп, VIIп...XIIп – месяцы предыдущего года

Fig. 7. Correlation and response function coefficients. Significant values ( $p < 0,05$ ) are highlighted in dark color and markers. I, II ... IX – months of the current year, VIп, VIIп...XIIп – months of the previous year

Так, после самой теплой зимы в Беларуси 1989/90 года со средней температурой воздуха  $-0,1$  °C (выше климатической нормы на  $3,9$  °C) во всех мастер-хронологиях отмечено резкое увеличение прироста (на 20–30 % выше среднего значения), особенно в северной и центральной дендрохронологических областях. Абсолютные максимумы температур воздуха в феврале этого года достигли  $+17,2$  °C (Брест).

С другой стороны, исключительно холодные периоды не только приводят к снижению интенсивности физиологических процессов в деревьях, но могут повреждать и меристемы последних, а также их проводящую систему. Так, минимальные значения прироста 1940 г. (на 30–40 % по сравнению со средним) и следующие несколько лет с низким приростом деревьев во всех дендрохронологических районах связаны с самой холодной зимой за всю историю метеорологических наблюдений в Беларуси. По данным Белгидромета, средняя температура за три зимних месяца составила  $-10,9$  °C, что на  $6,9$  °C ниже нормы. В эту зиму были зарегистрированы абсолютные минимумы температуры воздуха за весь период наблюдения (до  $-42,2$  °C на метеостанции Толочин).

**Закключение.** Разработанное дендрохронологическое районирование позволяет по-новому взглянуть на особенности формирования прироста и развития древесных видов на территории Беларуси. Разработанные функции отклика прироста сосны обыкновенной на климатические факторы в каждом дендрохронологическом районе позволяют прогнозировать поведение деревьев (гибель, снижение/увеличение продуктивности) в разных регионах Беларуси на фоне климатических изменений и, соответственно, планировать мероприятия по адаптации лесного хозяйства к этим изменениям.

Деление территории Беларуси на дендрохронологические районы подтверждается большим объемом исторического дендрохронологического материала, датировки которого выполнены в лаборатории продуктивности и устойчивости растительных сообществ Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси [31]. Статистически достоверно датируются только образцы, которые происходят из одного или рядом расположенных дендрохронологических районов, а датировки между образцами из южной и северной Беларуси возможны только в редких случаях, когда древесина для строительства перемещалась из сопредельных регионов. Это позволяет не только датировать образцы исторической древесины, но и определять регион их происхождения.

При отсутствии ярко выраженных факторов, лимитирующих прирост деревьев на территории Беларуси, четко прослеживается снижение влияния на прирост количества осадков в вегетационный сезон с юга на север с одной стороны и усиление влияния весенних и зимних температур – с другой. С учетом сложившейся тенденции и прогнозов потепления климата можно ожидать снижения прироста у деревьев сосны в южных регионах, в то время как в центральных и северных районах прирост будет увеличиваться, что надо учитывать при долговременном планировании лесопользования.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках задания 1.06 «Оценка влияния урбанизации и мелиорации на климатические, водные, земельные и лесные ресурсы Беларуси» ГПНИ «Природопользование и экология». Автор благодарит всех сотрудников лаборатории продуктивности и устойчивости растительных сообществ Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси, которые в разные годы помогали в сборе и обработке материала.

**Acknowledgements.** This researches were carried out as part of the project 1.06 “Assessing the Impact of Urbanization and Land Reclamation on the Climate, Water, Land, and Forest Resources of Belarus”, the State Program of Scientific Research “Nature Management and Ecology”. The author thanks all colleagues from the laboratory of productivity and stability of plant communities of the Institute of Experimental Botany of the NAS of Belarus, who helped in the collection and processing of material over the years.

#### Список использованных источников

1. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change / Core Writing Team ; ed. : R. K. Pachauri, L. A. Meyer. – Geneva : IPCC, 2014. – 151 p.
2. Логинов, В. Ф. Экстремальные климатические явления: пространственно-временные закономерности их изменений и предпосылки прогнозирования / В. Ф. Логинов, Ю. А. Бровка. – Минск : РУП БелНИЦ «Экология», 2012. – 132 с.

3. Гельтман, В. С. Географический и типологический анализ лесной растительности Белоруссии / В. С. Гельтман. – Минск : Наука и техника, 1982. – 326 с.
4. Болботунов, А. А. Дендрохронология сосны или ели объектов Национального парка «Нарочанский» / А. А. Болботунов, М. В. Рымашевская // Мониторинг и оценка состояния растительного мира : материалы междунар. науч.-практ. конф. (Минск – Нарочь, 22–26 сент. 2008 г.) / Ин-т эксперим. ботаники НАНБ. – Минск, 2008. – С. 140–143.
5. Яротов, А. Е. Динамика радиального прироста сосны обыкновенной в биогеоценозах на территории Беларуси : автореф. дис. ... канд. геогр. наук : 25.00.23 / А. Е. Яротов ; Белорус. гос. ун-т. – Минск, 2008. – 23 с.
6. Хвойные леса Беларуси в современных климатических условиях (дендроклиматический анализ) / В. Н. Киселев [и др.] ; под общ. ред. В. Н. Киселева. – Минск : Право и экономика, 2010. – 200 с.
7. Ермохин, М. В. Влияние климатических факторов на радиальный прирост деревьев сосны, ели и дуба в Беловежской пушце / М. В. Ермохин, В. В. Савельев // Особо охраняемые природные территории Беларуси. Исследования : сб. науч. ст. / Гос. природоохр. учреждение «Березин. биосфер. заповедник». – Минск, 2011. – Вып. 6. – С. 28–44.
8. Болботунов, А. А. Зональные древесно-кольцевые хронологии хвойных пород Беларуси и возможности их использования / А. А. Болботунов // Леса Беларуси и их рациональное использование : междунар. науч.-техн. конф. (29–30 нояб. 2000 г., Минск) : материалы конф. / ред. : О. А. Атрощенко, А. И. Ламоткин, А. А. Янушкевич. – Минск, 2000. – С. 157–159.
9. Битвинкас, Т. Т. Дендроклиматические исследования / Т. Т. Битвинкас. – Л. : Гидрометеоздат. – 1974. – 172 с.
10. Bartolin, T. Dendrochronology in Sweden / T. Bartolin // Ann. Acad. Sci. Fennicae. Ser. A. III: Geologica-geographica. – 1987. – Vol. 145. – P. 79–88.
11. Sakulich, J. B. A dendrochronological approach for analyzing the geographic range structure of tree species : Ph. D. diss. / J. B. Sakulich. – University of Tennessee, 2011. – 221 p.
12. Wilczyński, S. Local chronologies and regional diversity of dendrochronological signal of Douglas Fir in Poland / S. Wilczyński, E. Feliksik // Geochronometria. – 2007. – Vol. 26, N 1. – P. 69–80. <https://doi.org/10.2478/v10003-007-0008-z>
13. Regiony dendroclimacyjne sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w Polsce / S. Wilczyński [et al.] // Sylvan. – 2001. – N 8. – P. 53–61.
14. Koprowski, M. Growth/climate relationships in tree-ring widths of *Picea abies* in Lithuania and Poland / M. Koprowski, A. Vitas // The Polish climate in the European context : a historical overview / ed. : R. Przybylak [et al.]. – Dordrecht, 2010. – P. 327–340.
15. Yermokhin, M. Dendrochronology zoning of pine stands (*Pinus sylvestris* L.) in Belarus / M. Yermokhin, V. Saveliev // BaltDendro 2012 : 2nd International conference of Baltic states dendrochronologists, Šventoji, Lithuania, 30th August – 2nd September, 2012 : program and materials / Group of dendroclimatology and radiometrics. – Kaunas, 2012. – P. 29–30.
16. Ваганов, Е. А. Дендроклиматические исследования в Урало-Сибирской Субарктике / Е. А. Ваганов, С. Г. Шиятов, В. С. Мазепа. – Новосибирск : Наука, 1997. – 246 с.
17. Holmes, R. L. Computer-assisted quality control in tree-ring dating and measurement / R. L. Holmes // Tree-Ring Bull. – 1983. – N 44. – P. 69–75.
18. A 7,272-year tree-ring chronology for western Europe / J. R. Pilcher [et al.] // Nature. – 1984. – Vol. 312, N 5990. – P. 150–152. <https://doi.org/10.1038/312150a0>
19. Holmes, R. L. Dendrochronology program library. Users manual / R. L. Holmes. – Tucson : University of Arizona, 1984. – 51 p.
20. Fritts, H. C. Tree-rings and climate / H. C. Fritts. – London ; N. Y. ; San Francisco : Acad. Press, 1976. – 576 p.
21. Fritts, H. C. Tree-ring analysis: tool for water resource / H. C. Fritts // Trans. Am. Geophys. Union. – 1969. – Vol. 50, N 1. – P. 22–29. <https://doi.org/10.1029/EO050i001p00022>
22. Ермохин, М. В. Влияние климатических факторов на радиальный прирост ели (*Picea abies* (L.) Karst.) в Беларуси / М. В. Ермохин // Ботаника (исследования) : сб. науч. тр. / Ин-т эксперим. ботаники НАН Беларуси. – Минск, 2008. – Вып. 35. – С. 34–45.
23. Шкляр, А. Х. Климатические ресурсы Белоруссии и использование их в сельском хозяйстве / А. Х. Шкляр. – Минск : Вышэйш. шк., 1973. – 430 с.
24. Нацыянальны атлас Беларусі. – Минск : Белкартографія, 2002. – 292 с.
25. Динамика и состояние популяции пихты белой в урочище «Тисовик» / М. В. Ермохин [и др.] // Беловежская пушча. Исследования : сб. науч. ст. / ред. : А. В. Бурый [и др.]. – Брест, 2016. – Вып. 14. – С. 65–88.
26. Кныш, Н. В. Влияние климатических факторов на прирост дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в южных регионах Беларуси / Н. В. Кныш, М. В. Ермохин // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 2. – С. 169–179.
27. Крамер, П. Д. Физиология древесных растений / П. Д. Крамер, Т. Т. Козловский. – М. : Лесная промышленность, 1983. – 464 с.
28. Pisek, A. Assimilationsvermögen und Respiration der Fichte (*Picea excelsa* Link) in verschiedener Höhenlage und der Zirbe (*Pinus cembra* L.) an der alpinen Waldgrenze / A. Pisek, E. Winkler // Planta. – 1958. – Vol. 51, N 4. – P. 518–543. <https://doi.org/10.1007/BF01883340>
29. Field and controlled environment measurements show strong seasonal acclimation in photosynthesis and respiration potential in boreal Scots pine / P. Kolari [et al.] // Frontiers Plant Sci. – 2014. – Vol. 5. – Art. 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00717>
30. Wintertime photosynthesis and water uptake in a boreal forest / S. Sevanto [et al.] // Tree Physiol. – 2006. – Vol. 26, N 6. – P. 749–757. <https://doi.org/10.1093/treephys/26.6.749>
31. Ермохин, М. В. Дендрохронология в экологических и археологических исследованиях / М. В. Ермохин, В. В. Савельев // Наука и инновации. – 2015. – № 3 (145). – С. 66–68.

## References

1. Pachauri R. K., L. A. Meyer (eds.). *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Geneva, IPCC, 2014. 151 p.
2. Loginov V. F., Brovka Yu. A. *Extreme climatic phenomena: spatio-temporal patterns of their changes and prerequisites of prediction*. Minsk, Ekologiya Publ., 2012. 132 p. (in Russian).
3. Gel'tman V. S. *Geographical and typology analysis of forest vegetation of Belorussia*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1982. 326 p. (in Russian).
4. Bolbotunov A. A., Rymashevskaya M. V. Dendrochronology of pine and spruce in national park "Narochanski". *Monitoring i otsenka sostoyaniya rastitel'nogo mira: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 80-letiyu Natsional'noi akademii nauk Belarusi (Minsk – Naroch', 22–26 sentyabrya 2008 goda)* [Vegetation monitoring and assessment: materials of the International scientific conference dedicated to the 80th anniversary of the National Academy of Sciences of Belarus (Minsk – Naroch, September 22–26, 2008)]. Minsk, 2008, pp. 140–143 (in Russian).
5. Yarotov A. E. *Dynamics of the radial growth of Scots pine in biogeocenoses on the territory of Belarus*. Abstract of Ph. D. Thesis. Minsk, 2005. 23 p. (in Russian).
6. Kiselev V. N., Matyushevskaya E. V., Yarotov A. E., Mitrakhovich P. A. *Coniferous forests of Belarus in modern climatic conditions (dendroclimatic analysis)*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2010. 200 p. (in Russian).
7. Ermokhin M. V., Savel'ev V. V. Impact of climatic factors on a radial increment of pine, spruce and oak in Belovezhskaya Pushcha. *Osobo okhranyaemye prirodnye territorii Belarusi. Issledovaniya: sbornik nauchnykh statei. Vypusk 6* [Specially protected natural territories of Belarus. Research: collection of scientific articles. Issue 6]. Minsk, 2011, pp. 28–44 (in Russian).
8. Bolbotunov A. A. Zonal tree-ring chronologies of coniferous species of Belarus and the possibilities of their use. *Lesy Belarusi i ikh ratsional'noe ispol'zovanie: Mezhdunarodnaya nauchno-tekhnicheskaya konferentsiya (29–30 noyabrya 2000 goda, Minsk): materialy konferentsii* [Forests of Belarus and their rational use: International scientific and technical conference (November 29–30, 2000, Minsk): conference proceedings]. Minsk, 2000, pp. 157–159 (in Russian).
9. Bitvinskas T. T. *Dendroclimatic studies*. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1974. 172 p. (in Russian).
10. Bartolin T. Dendrochronology in Sweden. *Annales Academiæ Scientiarum Fennicæ. Series A. III: Geologica-geographica*, vol. 145, 1987, pp. 79–88.
11. Sakulich J. B. *A dendrochronological approach for analyzing the geographic range structure of tree species*. Ph. D. Thesis. University of Tennessee, 2011. 221 p.
12. Wilczyński S. Local chronologies and regional diversity of dendrochronological signal of Douglas Fir in Poland. *Geochronometria*, 2007, vol. 26, no. 1, pp. 69–80. <https://doi.org/10.2478/v10003-007-0008-z>
13. Wilszyński S., Krąpiec M., Szychowska-Krąpiec E., Zielski A. Regiony dendroclimaticzne sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) w Polsce. *Sylvan*, 2001, no. 8, pp. 53–61.
14. Koprowski M., Vitas A. Growth/climate relationships in tree-ring widths of *Picea abies* in Lithuania and Poland. *The Polish climate in the European context: a historical overview*. Dordrecht, 2010, pp. 327–340.
15. Yermokhin M., Saveliev V. Dendrochronology zoning of pine stands (*Pinus sylvestris* L.) in Belarus. *BaltDendro 2012: 2nd international conference of Baltic states dendrochronologists, Šventoji, Lithuania, 30th August – 2nd September, 2012: program and materials*. Kaunas, 2012, pp. 29–30.
16. Vaganov E. A., Shiyatov S. G., Mazepa V. S. *Dendroclimatic studies in the Ural-Siberian Subarctic*. Novosibirsk, Nauka Publ., 1997. 246 p. (in Russian).
17. Holmes R. L. Computer-assisted quality control in tree-ring dating and measurement. *Tree-Ring Bulletin*, 1983, no. 44, pp. 69–75.
18. Pilcher J. R., Baillie M. G. L., Schmidt B., Becker B. A 7,272-year tree-ring chronology for western Europe. *Nature*, 1984, vol. 312, no. 5990, pp. 150–152. <https://doi.org/10.1038/312150a0>
19. Holmes R. L. *Dendrochronology program library. Users manual*. Tucson, University of Arizona, 1984. 51 p.
20. Fritts H. C. *Tree-rings and climate*. London, New York, San Francisco, Academic Press, 1976. 576 p.
21. Fritts H. C. Tree-ring analysis: tool for water resource. *Transactions American Geophysical Union*, 1969, vol. 50, no. 1, pp. 22–29. <https://doi.org/10.1029/EO050i001p00022>
22. Ermokhin M. Impact of climatic factors on the tree rings variability of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) in Belarus. *Botanika (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 35* [Botany (research): a collection of scientific papers. Issue 35]. Minsk, 2008, iss. 35, pp. 34–45 (in Russian).
23. Shklyar A. Kh. *Climatic resources of Belarus and their use in agriculture*. Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 430 p. (in Russian).
24. *The National atlas of Belarus*. Minsk, Belkartografiya Publ., 2002. 292 p. (in Russian).
25. Ermokhin M. V., Barsukova T. L., Knysh N. V., Mychko V. E., Bernatskii D. I. Dynamics and state of the white fir population in the Tisovik tract. *Belovezhskaya pushcha. Issledovaniya: sbornik nauchnykh statei. Vypusk 14* [Belovezhskaya Pushcha. Research: collection of scientific articles. Issue 14]. Brest, 2016, pp. 65–88 (in Russian).
26. Knysh N. V., Ermokhin M. V. The effects of climatic factors in forming increment of English oak (*Quercus robur* L.) in south regions of Belarus. *Vestsy Natsyonal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series], 2019, vol. 64, no. 2, pp. 169–179 (in Russian).
27. Kramer P. D., Kozlovskii T. T. *The physiology of woody plants*. Moscow, Lesnaya promyshlennost' Publ., 1983. 464 p. (in Russian).

28. Pisek A., Winkler E. Assimilationsvermögen und Respiration der Fichte (*Picea excelsa* Link) in verschiedener Höhenlage und der Zirbe (*Pinus cembra* L.) an der alpinen Waldgrenze. *Planta*, 1958, vol. 51, iss. 4, pp. 518–543 (in German). <https://doi.org/10.1007/BF01883340>

29. Kolari P., Chan T., Bäck J., Nikinmaa E., Juurola E. Field and controlled environment measurements show strong seasonal acclimation in photosynthesis and respiration potential in boreal Scots pine. *Frontiers in Plant Science*, 2014, vol. 5, art. 717. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00717>

30. Sevanto S., Suni T., Pumpanen J., Grönholm T., Kolari P., Nikinmaa E., Hari P., Vesala T. Wintertime photosynthesis and water uptake in a boreal forest. *Tree Physiology*, 2006, vol. 26, no. 6, pp. 749–757. <https://doi.org/10.1093/treephys/26.6.749>

31. Ermokhin M. V., Savel'ev V. V. Dendrochronology in environmental and archaeological research. *Nauka i innovatsii* [Science and innovation], 2015, no. 3 (145), pp. 66–68 (in Russian).

### Інфармацыя аб аўторэ

*Ермохін Максім Валер'евіч* – канд. біол. навук, заведуючы лабораторыяй. Інстытут эксперыментальнай ботанікі ім. В. Ф. Купрэвіча НАН Беларусі (ул. Акадэмічэская, 27, 220072, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: [maxim.yermokhin@gmail.com](mailto:maxim.yermokhin@gmail.com)

### Information about the author

*Maxim V. Yermokhin* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [maxim.yermokhin@gmail.com](mailto:maxim.yermokhin@gmail.com)

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 599.426:591.522(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-454-461>

Поступила в редакцию 13.02.2020

Received 13.02.2020

**А. И. Ларченко, П. А. Велигуров, А. А. Семенова,  
А. А. Волнистый, И. А. Соловей**

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

## **НОВЫЕ ДАННЫЕ О ВИДОВОМ РАЗНООБРАЗИИ РУКОКРЫЛЫХ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «НАРОЧАНСКИЙ» (БЕЛАРУСЬ)**

**Аннотация.** Представлены результаты изучения фауны рукокрылых Национального парка (НП) «Нарочанский» (Минская обл., Беларусь) за полевые сезоны 2019–2020 гг. В отловах использовали нейлоновые паутинные сети, дополнительно проводили учеты и поиск колоний с помощью ультразвукового гетеродинного детектора. Отловлено 177 особей 9 видов: *Eptesicus nilssonii* (Keyserling et Blasius, 1839), *Myotis brandtii* (Eversmann, 1845), *M. dasycneme* (Boie, 1825), *M. daubentonii* (Kuhl, 1817), *Nyctalus noctula* (Schreber, 1774), *Plecotus auritus* (Linnaeus, 1758), *Pipistrellus nathusii* (Keyserling et Blasius, 1839), *P. pygmaeus* (Leach, 1825), *Vespertilio murinus* (Linnaeus, 1758). Найдено 11 убежищ колоний рукокрылых. В отловах сетями в местах охоты доминировал вид *P. nathusii*, субдоминант – *M. daubentonii*, самыми редкими видами оказались *M. brandtii* и *P. auritus*. Остальные виды имели небольшую представленность в видовой структуре – от 2,7 до 9,5 %.

Зарегистрированная впервые находка *M. brandtii* на территории НП «Нарочанский» отмечена как самая северная регистрация этого вида на территории Беларуси. Отловленные особи *E. nilssonii* и *M. brandtii* представлены только взрослыми самцами. По сравнению с результатами исследований, проведенных после 2000 г., достоверно подтверждено наличие *P. auritus*, *M. brandtii*, *M. daubentonii* и *V. murinus*.

**Ключевые слова:** рукокрылые, Chiroptera, фауна, Национальный парк «Нарочанский», *Myotis brandtii*

**Для цитирования:** Новые данные о видовом разнообразии рукокрылых Национального парка «Нарочанский» (Беларусь) / А. И. Ларченко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 454–461. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-454-461>

**Aleksandra I. Larchanka, Pavel A. Velihurau, Anastasiya A. Semyonova,  
Arseni A. Valnisty, Irina A. Solovej**

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

## **NEW DATA ON BATS SPECIES DIVERSITY IN NATIONAL PARK NAROCHANSKY (BELARUS)**

**Abstract.** The results of fauna study of National Park Narochansky (Minsk region) during the field seasons 2019-2020 are presented. We performed bat captures using mist nets and also surveyed settlements with an ultrasonic heterodyne detector. 177 specimens of 9 species were captured, specifically: *Eptesicus nilssonii* (Keyserling et Blasius, 1839), *Myotis brandtii* (Eversmann, 1845), *M. dasycneme* (Boie, 1825), *M. daubentonii* (Kuhl, 1817), *Nyctalus noctula* (Schreber, 1774), *Plecotus auritus* (Linnaeus, 1758), *Pipistrellus nathusii* (Keyserling et Blasius, 1839), *P. pygmaeus* (Leach, 1825), *Vespertilio murinus* (Linnaeus, 1758). 11 settlements of bats were discovered and mapped within the study area. According to the mist net captures, the dominant species is *P. nathusii*, with subdominant *M. daubentonii*; and *M. brandtii* with *P. auritus* as the rarest species. Other species had represented ratios of 2.7 to 9.5 % in the nets captures. Species *E. nilssonii* and *M. brandtii* are only represented by male specimens. We also report the first registered discovery of *Myotis brandtii* on the territory of National Park Narochansky, which is also the most northern registration of that species in Belarus. In comparison to the previous studies, we have confirmed the presence of several species with previously questionable local status: *P. auritus*, *M. brandtii*, *M. daubentonii* and *V. murinus*.

**Keywords:** bats, Chiroptera, fauna, National Park Narochansky, *Myotis brandtii*

**For citation:** Larchanka A., Velihurau P. A., Semyonova A. A., Valnisty A. A., Solovej I. A. New data on bats species diversity in National Park Narochansky (Belarus). *Vestsi Natsyonal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 454–461 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-454-461>

**Введение.** Основной целью создания в 1999 г. одного из четырех национальных парков (НП) Беларуси, «Нарочанского», было сохранение уникальных и ценных природных комплексов, биоразнообразия Белорусского Поозерья и более полного и эффективного использования ресурсов в процессе природоохранной, научной, просветительской, туристической, рекреационной и оздоровительной деятельности.

В пределах Беларуси насчитывается более 80 видов млекопитающих, включая 19 представителей отряда Рукокрылые. Значительная часть видов отряда (8, что составляет 42 % от общего числа представителей отряда в Беларуси) включена в Красную книгу Республики Беларусь. Для большей части хироптерофауны страны лесные экотопы являются перелетными коридорами, а также кормовой территорией, на которой многие рукокрылые находят убежища для выведения потомства или зимовки.

НП «Нарочанский» расположен в северо-западной части Минской области и частично захватывает Витебскую область. В административном отношении его большая часть находится на территории Мядельского района (96,0 %), частично – на территории Вилейского (2,0 %), Поставского (1,7 %) и Сморгонского (0,3 %) районов. Общая площадь НП «Нарочанский» составляет 97,3 тыс. га [1].

Лесные комплексы Нарочанского парка с множеством озер и наличием старых дуплистых деревьев являются благоприятной территорией для обитания рукокрылых. С целью сохранения данных представителей млекопитающих актуальным является уточнение их видового состава и пространственного распределения, изучение мест дневок и зимовок, а также расположения материнских колоний.

Анализируемая территория характеризуется большим разнообразием ландшафтов, которые типичны для Белорусского Поозерья. Здесь высокие гряды и холмы с небольшими озерами на моренных возвышенностях сочетаются с глубокими озерными котловинами, окруженными лесами и болотами. Лесистость этой территории составляет более 40 %, причем более половины площади растительного покрова (около 39 тыс. га) находится в естественном состоянии [1]. Наибольший интерес в качестве убежищ для рукокрылых представляют старовозрастные деревья и участки спелых и перестойных лесов, которые произрастают здесь на площади 1639 га (что составляет 4 % от площади лесов НП). Следует отметить, что на территории НП «Нарочанский» запрещены рубки главного пользования, что позволяет сохранить большое количество старовозрастных деревьев.

НП «Нарочанский» расположен в Ошмянско-Минском геоботаническом округе и относится к подзоне дубово-темнохвойных лесов. В составе лесов этой территории преобладают сосняки. Значительную площадь подзоны занимают еловые леса, березняки и осинники [2]. Встречаются широколиственно-хвойные леса, а также широколиственные дубовые и ясеневые насаждения.

Особого внимания заслуживает оценка старовозрастных деревьев, которые достаточно широко распространены на территории данного парка. Деревья обеспечивают укрытие и привлекают множество видов насекомых, которыми питаются рукокрылые. Летучие мыши не способны создавать отверстия в древесине или вить гнезда, поэтому они используют любые имеющиеся полости, в том числе сделанные другими животными или образованные в ходе естественного распада древесины, а также такие элементы дерева, как стволы, дупла, трещины в ветвях, расщелины, оставленные ударом молнии и защищенные участки, образованные отслаивающейся корой. Кроме того, летучие мыши используют многое из перечисленного выше в качестве укрытий, где они могут отдыхать и переваривать пищу после ночной охоты. Дуб, сосна, ель, бук или ясень также отлично подходят для летучих мышей. Но в целом любой лес или дерево имеют потенциал для укрытия летучих мышей, особенно если есть полости в стволе или ветвях, дупла дятлов, рыхлая кора, расщелины и густая растительность на стволах (плющи и лианы).

Летучие мыши добывают корм по окраинам леса, в прибрежных районах (территории, примыкающие к водным объектам и подверженные их влиянию), над поверхностью воды, вдоль

лесных дорог и троп, а также на лесных опушках или в местах сбора урожая. Стратегии кормодобывания сильно различаются у лесных видов: некоторые ловят добычу вокруг наземных кустарников, в то время как другие предпочитают кормиться под кронами деревьев или над ними [3]. Летучие мыши нуждаются в чистых, открытых водоемах, достаточно больших для того, чтобы можно было пить во время полета, без препятствий в виде растительности, ограждений или других объектов. На территории НП «Нарочанский» расположено три группы озер: Болдукская, Нарочанская и Мядельская. Заглавное место в Нарочанской группе озер занимает оз. Нарочь – самое крупное естественное водохранилище в Беларуси площадью 80 км<sup>2</sup>. Всего в Нарочанском парке насчитывается около 40 озер, что составляет 17 % от его площади.

Ранее проведенные исследования в данном регионе были фрагментарны и охватывали не всю территорию парка. С 2012 по 2018 г. на территории НП проводились систематические учеты рукокрылых с помощью ультразвуковых детекторов. Кроме того, с 2015 по 2018 г. проводились отловы паутиными нейлоновыми сетями. Эти данные позволили установить, что на территории НП «Нарочанский» достоверно обитает 5 видов рукокрылых, 2 из которых включены в Красную книгу Республики Беларусь и имеют высокий природоохранный статус: *N. noctula*, *P. nathusii*, *P. pygmaeus*, *E. nilssonii* и *M. dasycneme*. С помощью детекторов также были зарегистрированы *N. leisleri* и *M. daubentonii* [4]. Однако следует отметить, что в указанный период была обследована не вся территория, а только окрестности оз. Нарочь, вне зоны учетов осталась большая часть парка, что, несомненно, дает основание для более подробного изучения сообществ рукокрылых.

Цель исследования – оценить видовой состав и особенности распространения рукокрылых по всей территории Национального парка «Нарочанский», а также отметить основные места их охоты и дневных убежищ.

**Материалы и методы исследования.** Изучение фауны рукокрылых НП «Нарочанский» проводились в июле 2019 г. и в июне и августе 2020 г. в 15 локализациях на территории НП (рис. 1): в рыбхозе «Шеметово», дендрологическом саду, на озерах Нарочь, Волчино, Глубля, Вишневецкое, Мертвое, Великие Швакшты, Белое, в окрестностях деревень Володьки, Комарово и Боровые. Отлов рукокрылых в местах охоты осуществлялся нейлоновыми паутиными сетями размером 10×2,5, 15×2,5, 6×2,5 и 9×2,5 м по стандартной методике [3]. Сети устанавливали незадолго до наступления сумерек и снимали на рассвете. Места учетных ловов выбирали по принципу наличия открытого водоема, старовозрастных деревьев поблизости, пригодных для размещения рукокрылых, ограниченных летных коридоров (просеки, лесные дороги и т. п.).

Поиск убежищ рукокрылых осуществляли с помощью детектора Pettersson D200 (heterodyne). Во время сумерек и в предрассветные часы совершали обход исследуемой территории с детектором, отмечали роения животных, шум, социальные звуки рукокрылых. Места находок картировали с помощью GPS-навигатора и обследовали днем.

У пойманных животных определяли вид, пол, возраст (в двух возрастных группах: adult – взрослые животные, juvenile – особь, рожденная в этот год), репродуктивное состояние (отмечалось для самок: яловая, беременная или лактирующая), измеряли длину предплечья и другие диагностические признаки. Виды идентифицировали согласно опубликованным ключам [3]. Наиболее тщательно осматривали особей, относящихся к комплексам криптических видов: *Myotis mystacinus/brandtii*, *Pipistrellus pipistrellus/pygmaeus*. Для особей комплекса *Myotis mystacinus/brandtii* в связи с тем, что были пойманы только самцы, основным отличительным признаком была форма гениталий. Среди отловленных животных комплекса *Myotis mystacinus/brandtii* усатой ночницы обнаружено не было. Для рукокрылых, относящихся к видовому комплексу *Pipistrellus pipistrellus/pygmaeus*, было тщательно осмотрено жилкование крыльев, окраска паховой области и мордочки, после чего все животные были определены как *P. pygmaeus*.

**Результаты и их обсуждение.** Всего за два полевых сезона нами было отловлено 177 особей рукокрылых 9 видов: *Eptesicus nilssonii*, *Myotis brandtii*, *M. dasycneme*, *M. daubentonii*, *Nyctalus noctula*, *Plecotus auritus*, *Pipistrellus nathusii*, *P. pygmaeus*, *Vespertilio murinus*, что составляет 47 % от видового разнообразия рукокрылых Беларуси. Относительное обилие, видовой состав и доли



Рис. 1. Места отловов рукокрылых сетями в НП «Нарочанский» в полевые сезоны 2019–2020 г.: 1–3 – Голубые озера (оз. Глубля, оз. Мертвое); 4 – водоем в д. Комарово; 5 – оз. Вел. Швакшты; 6 – оз. Нарочь, окр. санатория «Спутник»; 7 – оз. Нарочь, окр. д. Боровые; 8 – рыбхоз «Шеметово»; 9 – окр. д. Володьки (р. Свирица); 10 – о. Вишнево; 11 – водоем в дендрологическом саду; 12, 13 – оз. Белое; 14 – оз. Волчино; 15 – оз. Дягили

Fig. 1. Locations of captures performed with nets in National Park Narochansky at the field seasons 2019–2020: 1–3 – Glublja lake and Miortvaje lake; 4 – a pond in Kamarova village; 5 – Vialikija Shvakshty lake; 6 – Narach lake, near “Sputnik” sanatorium; 7 – Narach lake, near Borovye village; 8 – “Shemetovo” fish farm; 9 – Sviritsa river; 10 – Vishnevskoe lake; 11 – a pond in S. A. Homza’s dendrological garden; 12, 13 – Belae lake; 14 – Volchino lake; 15 – Dyagili lake

отловленных рукокрылых по результатам отловов паутиными сетями в местах охоты представлены на рис. 2. В отловах преобладали два вида – *P. nathusii* и *M. daubentonii*, реже встречались *E. nilssonii* и *P. auritus*. Из 9 отловленных видов всего один – *M. brandtii* – представлен только взрослыми самцами, для остальных видов отмечены взрослые самки и детеныши, что свидетельствует о факте размножения этих видов на территории НП «Нарочанский». Подробная половозрастная структура отражена на рис. 3.

Следует отметить, что нами впервые отловлены 3 особи *Myotis brandtii* в НП «Нарочанский», что является самой северной точкой регистрации этого вида для Беларуси. Сведения о находках ночницы Брандта в Беларуси достаточно редки: в июне 2001 г. две особи были пойманы в Брестской области; в 2003 г. один взрослый самец зарегистрирован в Петриковском районе Гомельской области [5]. В июне–июле 2015–2016 гг. в Житковичском районе на территории заказника «Старый Жаден» было отловлено 12 взрослых ночниц Брандта, включая 7 лактирующих и 1 беременную самку, что указывало на размножение данного вида в регионе Припятского Полесья [6]. На настоящий момент самой восточной из известных в Беларуси точек регистрации является находка ночницы Брандта в Полесском радиационно-экологическом заповеднике [7, 8].

На территории НП «Нарочанский» за весь период исследований нами зарегистрировано 11 колоний рукокрылых, идентифицированных по роению большого количества животных над предполагаемым убежищем в сумеречное время и по характерным для скоплений рукокрылых звукам. Колония лесного нетопыря в 2019–2020 гг. обнаруживалась в беседке в окрестностях оз. Глубля, остальные колонии – в старых деревьях: дубах, соснах, тополе.

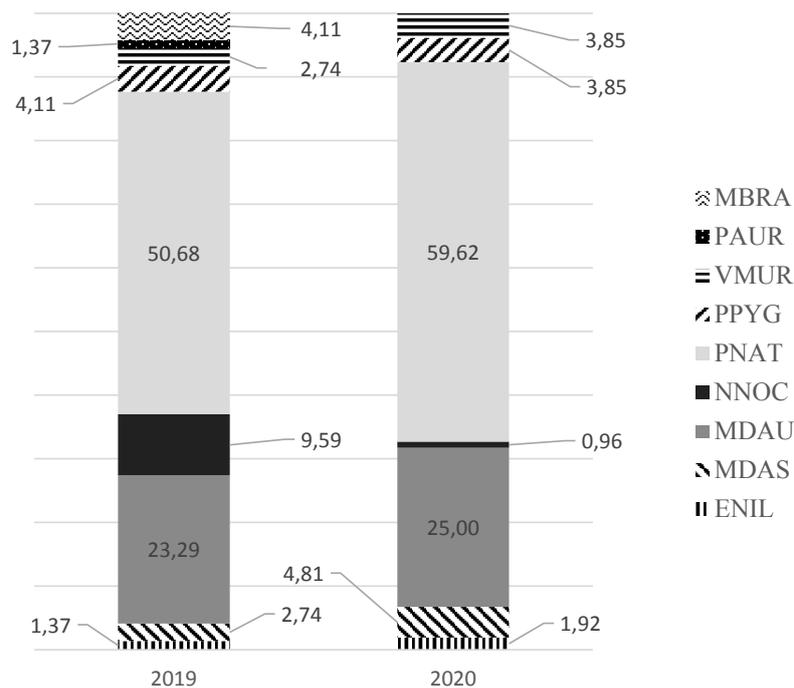


Рис. 2. Видовой состав и доли отловленных рукокрылых в 2019 и 2020 гг. на территории НП «Нарочанский». Здесь и на рис. 3: ENIL – *Eptesicus nilssonii*, MBRA – *Myotis brandtii*, MDAS – *M. dasycneme*, MDAU – *M. daubentonii*, NNOC – *Nyctalus noctula*, PAUR – *Plecotus auritus*, PNAT – *Pipistrellus nathusii*, PPYG – *P. pygmaeus*, VMUR – *Vespertilio murinus*

Fig. 2. Species composition and proportion of caught bats in 2019 and 2020 on the territory of National Park Narochansky. There and in Fig. 3: ENIL – *Eptesicus nilssonii*, MBRA – *Myotis brandtii*, MDAS – *M. dasycneme*, MDAU – *M. daubentonii*, NNOC – *Nyctalus noctula*, PAUR – *Plecotus auritus*, PNAT – *Pipistrellus nathusii*, PPYG – *P. pygmaeus*, VMUR – *Vespertilio murinus*

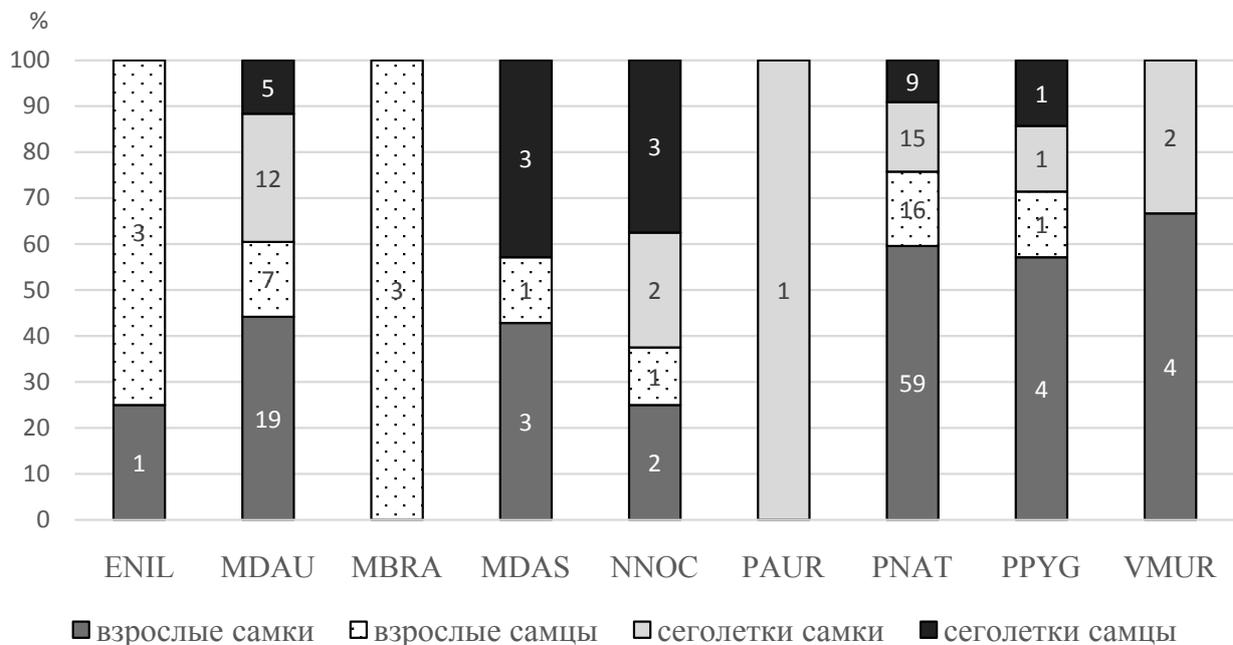


Рис. 3. Половозрастная структура рукокрылых НП «Нарочанский» по результатам отловов в 2019–2020 гг. Цифры в столбиках обозначают количество пойманных особей

Fig. 3. Sex and age composition of bat specimens caught with mist nets in National Park Narochansky 2019–2020. Digits in the bar represents the number of specimens captured

Все выявленные нами виды рукокрылых включены в Приложение II Боннской конвенции по сохранению мигрирующих видов диких животных («Мигрирующие виды, сохраняемые в рамках соглашений») и в Приложение II Бернской конвенции об охране дикой фауны и флоры и природных сред обитания в Европе («Строго охраняемые виды фауны»). Нами подтверждена значимость территории Нарочанского парка для обитания и сохранения рукокрылых, в том числе редких охраняемых видов [9] (см. таблицу), как места расположения большого количества дневных убежищ, материнских колоний, мест охоты и т. п.

#### Видовой состав рукокрылых НП «Нарочанский» и их охранный статус

#### Bat species of National Park Narochansky and their conservation status

Вид	Численность рукокрылых	Охранный статус	
		Категория Красной книги Республики Беларусь	Другое
<i>Eptesicus nilssonii</i> (северный кожанок)	Единичные особи (взрослые самцы)	IV	Приложение IV к Директиве Европейского союза о местообитаниях 92/43/ЕЕС, красные книги Украины, Литвы, Польши
<i>Myotis brandtii</i> (ночница Брандта)	Единичные особи (взрослые самцы)	III	Приложение IV к Директиве Европейского союза о местообитаниях 92/43/ЕЕС, красные книги Украины, Литвы, Латвии
<i>M. dasycneme</i> (прудовая ночница)	Материнские колонии	II	Список МСОП (NT), Приложение II к Директиве Европейского союза о местообитаниях 92/43/ЕЕС, красные книги Украины, Литвы, Латвии, Польши
<i>M. daubentonii</i> (водяная ночница)	Материнские колонии		Красные книги Украины, Латвии
<i>Nyctalus noctula</i> (рыжая вечерница)	Материнские колонии		Красные книги Украины, Литвы, Латвии
<i>Plecotus auritus</i> (бурый ушан)	Материнские колонии		Красные книги Украины, Латвии
<i>Pipistrellus nathusii</i> (лесной нетопырь)	Материнские колонии		Красные книги Украины, Латвии
<i>P. pygmaeus</i> (нетопырь-пигмей)	Материнские колонии		
<i>Vespertilio murinus</i> (двухцветный кожан)	Материнские колонии		Красные книги Украины, Литвы, Латвии, Польши

**Заключение.** По сравнению с исследованиями, проведенными после 2000 г. [4], впервые были зарегистрированы два новых вида для территории НП «Нарочанский» (*P. auritus*, *M. brandtii*) и отловлены два вида, которые ранее регистрировали только с помощью детектора (что достоверно подтверждает их наличие): *M. daubentonii* и *V. murinus*. Целенаправленный поиск малой вечерницы, которую ранее регистрировали с помощью детектора, к сожалению, не принес достоверных результатов. Установлены места дневных убежищ и основные места охоты. В дальнейшем эти данные будут дополнены.

**Благодарности.** Исследование проведено при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований «НАУКА-М B19M-085 «Современное состояние фауны рукокрылых НП «Нарочанский»». Авторы выражают благодарность сотрудникам научного отдела ГПУ НП «Нарочанский» за помощь в проведении исследований.

**Acknowledgements.** The following research is performed using financial support from the Belarusian National Foundation of Fundamental Research “NAUKA-M B19M-085” “The current state of the bat fauna in NP “Narochansky”. Authors of the article are deeply grateful for the help in associating the research process to the employees of the scientific department of National Park Narochansky.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Торбенко, А. Б. Заповедное дело : метод. рекомендации / А. Б. Торбенко. – Витебск : ВГУ имени П. М. Машерова, 2014. – 53 с.
2. Лабоха, К. В. Характеристика сосновой формации в подзоне дубово-темнохвойных лесов Беларуси / К. В. Лабоха, А. Ч. Борко // Тр. БГТУ. Сер. Лесное хозяйство. – 2011. – № 1 (139). – С. 104–108.
3. Dietz, C. Bats of Britain, Europe and Northwest Africa / C. Dietz, O. Helversen, D. Nill. – London : A&C Black Publ., 2009. – 400 p.
4. Ларченко, А. И. Видовое разнообразие рукокрылых НП «Нарочанский» / А. И. Ларченко, Д. Г. Юрченко, А. В. Шпак // Молодежь в науке – 2017 : сб. тез. Междунар. конф. молод. ученых. – Минск, 2018. – С. 106–107.
5. Шпак, А. В. Первая находка *Myotis brandtii* (Mammalia, Vespertilionidae) в Центральном Полесье Беларуси / А. В. Шпак // Вестн. зоологии. – 2010. – Т. 44, № 3. – С. 252.
6. Домбровский, В. К териофауне Национального парка «Припятский» (Беларусь) / В. Домбровский, И. Болотина // Праці териолог. школи. – 2014. – Т. 12. – С. 22–25.
7. Домбровский, В. Ч. Результаты учетов рукокрылых (Chiroptera) в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике в 2016–2017 гг. / В. Ч. Домбровский // Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси : материалы XI Зоол. междунар. науч.-практ. конф., приуроч. к 10-летию основания ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» / редкол. : О. И. Бородин (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2017. – Т. 1. – С. 105–112.
8. Кусьнеж, О. В. Знахідки *Barbastella barbastellus* та *Myotis brandtii* у Природному парку «Прип'ятський (Білорусь) / О. В. Кусьнеж, В. Ч. Домбровский, М. В. Скирпан // Териофауна заповідних територій та збереження ссавців : зб. наук. пр. / упоряд. : І. Загороднюк, З. Селюніна. – Гола Пристань, 2012. – С. 28.
9. Красная книга Республики Беларусь. Животные: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных / редкол. : И. М. Качановский [и др.]. – 4-е изд. – Минск : Беларус. Энцыкл., 2015. – 317 с.

## References

1. Torbenko A. B. *Nature conservation: guidelines*. Vitebsk, Vitebsk State University named after P. M. Masharov, 2014. 53 p. (in Russian).
2. Labokha K. V., Borko A. Ch. Description of the pine formation in the subzone of oak-dark coniferous forests of Belarus. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya Lesnoe khozyaistvo* [Proceedings of the Belarusian State Technological University. Forestry series], 2011, no. 1 (139), pp. 104–108 (in Russian).
3. Dietz C., Helversen O., Nill D. *Bats of Britain, Europe and Northwest Africa*. London, A&C Black Publishers, 2009. 400 p.
4. Larchenko A. I., Yurchenko D. G., Shpak A. V. Species diversity of bats of “Narochansky” national park. *Molodezh' v nauke – 2017: sbornik tezisov Mezhdunarodnoi konferentsii molodykh uchennykh* [Youth in Science – 2017: collection of abstracts of the International conference of young scientists]. Minsk, 2018, pp. 106–107 (in Russian).
5. Shpak A. V. First record of *Myotis brandtii* (Mammalia: Vespertilionidae) in the Central Polesie of Belarus. *Vestnik zoologii* [Bulletin of zoology], 2010, vol. 44, no. 3, p. 252 (in Russian).
6. Dombrovskii V., Bolotina I. Mammal fauna of the National Park “Pripyatsky” (Belarus)]. *Pratsi Teriologichnoi Shkoli = Theriologia Ukrainica*, 2014, vol. 12, pp. 22–25 (in Russian).
7. Dombrovskii V. Ch. The results of counts of bats (Chiroptera) in the Polesky State Radiation and Ecological Reserve in 2016–2017]. *Aktual'nye problemy zoologicheskoi nauki v Belarusi: materialy XI Zoologicheskoi Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, priurochennoi k desyatiletiyu osnovaniya GNPO “NPTs NAN Belarusi po bioresursam” (Minsk, 1–3 noyabrya 2017 goda). Tom 1* [Actual problems of zoological science in Belarus: materials of the XI Zoological International scientific and practical conference, dedicated to the 10th anniversary of the foundation of the State Scientific and Production Association “Scientific Research Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources” (Minsk, November 1–3, 2017). Volume 1]. Minsk, 2017, pp. 105–112 (in Russian).
8. Kus'nez O. V., Dombrovskii V. Ch., Skirpan M. V. Finds of *Barbastella barbastellus* and *Myotis brandtii* at the Natural Park Pripyatsky (Belarus). *Teriofauna zapovidnikh teritorii ta zberezhennya ssavtsiv: zbirnik naukovikh prats'* [The teriofauna of the Western territories and the protection of the savts: zbirnik naukovikh prats]. Gola Pristan' Publ., 2012, p. 28 (in Ukrainian).
9. *The Red Book of the Republic of Belarus. Animals: rare and endangered species of wild animals. 4th ed.* Minsk, Belaruskaya Entsyklopedyya Publ., 2015. 317 p. (in Russian).

## Информация об авторах

Ларченко Александра Игоревна – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alexa.lar@mail.ru

## Information about the authors

Aleksandra I. Larchanka – Junior Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alexa.lar@mail.ru

*Велигуров Павел Александрович* – науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pavel.veligurov@gmail.com

*Семенова Анастасия Александровна* – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nastyecoby@gmail.com

*Волнистый Арсений Андреевич* – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volnisty.aa@yandex.by

*Соловей Ирина Александровна* – ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: soloveji@tut.by

*Pavel A. Veligurov* – Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pavel.veligurov@gmail.com

*Anastasiya A. Siamionava* – Junior Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nastyecoby@gmail.com

*Arseni A. Valnisty* – Junior Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volnisty.aa@yandex.by

*Irena A. Solovej* – Senior Researcher. Scientific and Practical Center for Bioresources of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: soloveji@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.524.2:582.998:581.192(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-462-472>

Поступила в редакцию 28.05.2020

Received 28.05.2020

**Т. А. Скуратович, Н. Б. Павлютина, О. В. Молчан**

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

## **ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ 2,4-Д, КЛОПИРАЛИДА И ГЛИФОСАТА ПРОТИВ АМБРОЗИИ ПОЛЫННОЛИСТНОЙ, РАСПРОСТРАНЕННОЙ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ**

**Аннотация.** Исследована биологическая эффективность 2,4-Д, клопиралида и глифосата, действующих веществ многих коммерческих гербицидов, против амброзии полыннолистной в контролируемых лабораторных условиях. Также проведена оценка ряда физиологических параметров (высота, образование листьев, диаметр стебля, содержание хлорофилла, накопление сухой массы) исследуемых растений. Установлены максимальная биологическая эффективность и высокая степень ингибирования физиологических процессов растений амброзии полыннолистной при обработке 2,4-Д, клопиралидом и глифосатом в дозах 530, 461 и 406 г/га соответственно. Биологическая эффективность 2,4-Д составила 86 %, клопиралида – 83, глифосата – 80 %. Выявлено, что для ускорения и оптимизации процесса тестирования эффективности гербицидов против амброзии полыннолистной в полевых условиях может быть использован экспресс-метод определения содержания хлорофилла портативным прибором флавонол-хлорофилломером DUALEX. Данный подход позволит прогнозировать эффективность гербицидов уже на 7-е сутки после обработки, что существенно ускорит подбор коммерческих препаратов и норм их расхода.

**Ключевые слова:** *Ambrosia artemisiifolia* L., 2,4-Д, клопиралид, глифосат, хлорофилл

**Для цитирования:** Скуратович, Т. А. Оценка эффективности действия 2,4-Д, клопиралида и глифосата против амброзии полыннолистной, распространенной на территории Беларуси / Т. А. Скуратович, Н. Б. Павлютина, О. В. Молчан // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 462–472. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-462-472>

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

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

## **EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF 2,4-D, CLOPYRALID AND GLYPHOSATE IN RELATION TO *AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L. GROWING IN BELARUS**

**Abstract.** The biological effectiveness of the active substances 2,4-D, clopyralide and glyphosate (Sigma, USA) in relation to ragweed under the controlled laboratory conditions was studied. The number of physiological parameters (plant height, leaf formation, stem diameter, chlorophyll content, dry weight accumulation) of the studied plants were also evaluated. It was found that treating ragweed plants having 3 pairs of leaves by herbicides 2,4-D, clopyralid and glyphosate showed maximum biological effectiveness and the level of inhibition of physiological processes at doses of 530, 461, and 406 g/ha respectively. The biological effectiveness of herbicides was 86 % for 2,4-D, clopyralid – 83, glyphosate – 80 %. It was revealed that in order to speed up and optimize the process of testing the effectiveness of herbicides against ragweed in the field, the express method for determining the chlorophyll content with the DUALEX portable flavonol-chlorophyllometer can be used. This indicator will determine the effectiveness of herbicides already on the 7th day after treatment, which will significantly accelerate the selection of substances and herbicide consumption rates.

**Keywords:** *Ambrosia artemisiifolia* L., 2,4-D, clopyralide, glyphosate, chlorophyll

**For citation:** Skuratovich T. A., Pavlyutina N. B., Molchan O. B. Evaluation of the efficiency of 2,4-D, clopyralid and glyphosate in relation to *Ambrosia artemisiifolia* L. growing in Belarus. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 462–472 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-462-472>

**Введение.** Амброзия полыннолистная (*Ambrosia artemisiifolia* L.) – однолетнее растение из семейства *Asteraceae* – опасный инвазивный вид, который является карантинным объектом для Республики Беларусь. В зависимости от условий произрастания *A. artemisiifolia* достигает высоты 20–100 см (редко до 200 см) [1]. Развивая мощную надземную массу и корневую систему,

*A. artemisiifolia* сильно подавляет рост аборигенных растений [2]. Кроме того, амброзия расходует много воды и питательных веществ на образование биомассы, что приводит к иссушению почвы и значительному снижению ее плодородия. Помимо этого, *A. artemisiifolia*, как правило, оказывает отрицательное аллелопатическое действие на прорастание семян и развитие растений [3, 4]. На лугах и пастбищах амброзия может вытеснять злаково-бобовые травы и снижать кормовые качества сена из-за содержания в листьях горьких эфирных масел [5]. Пыльца амброзии является сильнейшим аллергеном, вызывающим тяжелые аллергические реакции, риниты, конъюнктивиты, бронхиальную астму [6, 7].

Родиной амброзии полыннолистной является Северная Америка [1]. В Европу семена различных видов амброзии, скорее всего, были завезены из Америки вместе с семенами клевера и зерном. В Западной Европе амброзия была обнаружена в Бранденбурге (Германия) уже в 1863 г. [8]. В настоящее время в Европе амброзия отмечена в трех основных регионах: в долине Роны (Франция), в Северной Италии и Карпатском бассейне, а также в сельской местности в Австрии [9–13]. Исходным регионом распространения амброзии в Словакии является равнина в бассейне р. Дунай и Восточная Словакия. Первое описание ее присутствия (Комарно, юго-западная Словакия) датируется 1949-м годом. В Словению *Ambrosia artemisiifolia* была завезена в конце Второй мировой войны (карта распространения амброзии впервые была опубликована в 1978 г.), и ее появление здесь считалось временным. Тем не менее, в низменностях амброзия сумела быстро и широко распространиться [14]. В России наиболее загрязненными районами являются Краснодарский и Ставропольский край [11].

В Беларуси этот опасный карантинный сорняк впервые был отмечен в 1973 г. в Мозырском районе [1]. Семена *A. artemisiifolia* заносятся в Беларусь из южных регионов, в том числе из России и Украины. В последнее время наблюдается увеличение скорости экспансии, расширение количества мест и площади распространения данного вида на территории Беларуси. Проникая через железнодорожные пути и автостреды, а также с зараженным зерном, амброзия полыннолистная поселяется в нарушенных местообитаниях, способна проникать в природные экосистемы и быстро образовывать крупные заросли. Кроме того, изменение климатических условий на территории Беларуси (повышение зимних и летних температур) [15] приводит к ускорению ростовых процессов, увеличению выживаемости амброзии, продуктивности пыльцы растения. В кадастре РБ зарегистрирована 31 популяция амброзии полыннолистной, общая площадь распространения которой составляет 7,6 га [16]. Этот опасный инвазивный вид в последние годы активно расширяет свой ареал на территории республики. Он произрастает на железнодорожных насыпях, обочинах дорог, пустырях, свалках мусора, в нарушенных местах населенных пунктов, на территории комбинатов хлебопродуктов и т. д. [16, 17].

Основными методами борьбы с амброзией полыннолистной являются карантинные, агротехнические, биологические и химические. Химический метод является в настоящее время наиболее широко используемым. Согласно результатам ряда работ, амброзию полыннолистную в различной степени подавляют более 50 различных гербицидов, применяемых в посевах сельскохозяйственных культур и на необрабатываемых землях [18]. Наиболее эффективны гербициды на основе 2,4-Д, клопиралида, глифосата.

Например, исследования в штате Небраска показали, что амброзия чувствительна к гормоноподобным гербицидам, или синтетическим ауксинам, и может эффективно контролироваться при помощи 2,4-Д [19, 20]. В других работах отмечено, что применение 2,4-Д с нормой расхода 280 и 560 г/га привело к подавлению амброзии на 57 и 73 % соответственно, а глифосинат аммония в комплексе с 2,4-Д обеспечивал уничтожение амброзии примерно на 89 % [21].

По результатам других исследований наиболее эффективными гербицидами, подавляющими амброзию полыннолистную, являются препараты на основе клопиралида. В Германии и Дании исследовано влияние клопиралида на скошенные (до 10 см) и неповрежденные растения амброзии [18]. В результате авторами работы установлено, что клопиралид обладает низкой эффективностью при обработке неповрежденной амброзии, а применение после кошения повышает его эффективность [22].

Во многих публикациях приводятся результаты исследований влияния глифосата на амброзию полыннолиственную. Показано [22], что глифосат оказывает на амброзию более эффективное действие, чем клопиралид. Также в последнее время проводится много исследований комплексного действия глифосата с другими гербицидами на амброзию полыннолиственную. Так, в работе [23] показано, что при применении смеси глифосата и фомесафена биомасса амброзии уменьшается на 95 %, при использовании глифосата и ацифлуорфена – на 92 %.

Вместе с тем амброзия полыннолистная способна адаптироваться к стрессовым условиям и в ответ на действие гербицидов проявлять защитную или ростстимулирующую реакцию, например формировать семена с высокой жизнеспособностью [18, 21].

Несмотря на то что в последние годы отмечается явное увеличение скорости экспансии и расширение количества мест, а также площади распространения амброзии полыннолиственной на территории Беларуси, специальных исследований по разработке методов борьбы с ней не проводилось. Поэтому в настоящее время чрезвычайно актуальным является подбор эффективных гербицидов против амброзии полыннолиственной, разрешенных к применению на территории Беларуси, проведение их испытаний в лабораторных и полевых условиях для предотвращения ее распространения по территории нашей республики.

Цель данной работы – оценка в контролируемых лабораторных условиях активности 2,4-Д, клопиралида и глифосата в отношении амброзии полыннолиственной, семена которой были собраны на территории Беларуси.

**Материалы и методы исследования.** Объектами исследований были растения амброзии полыннолиственной (семена собраны на территории Гомельской области), выращенные в лабораторных условиях до появления третьей пары листьев при 16-часовом фотопериоде, освещенности  $270 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ; температуре воздуха  $+25 \text{ }^\circ\text{C}$ ; относительной влажности воздуха 70 %. Влажность почвы поддерживали на уровне полевой влагоемкости. Емкости объемом 200 мл заполняли почвогрунтом и высаживали проростки амброзии в количестве 1 штука на емкость.

Для обработки растений применяли следующие дозы действующих веществ гербицидов (Sigma, США): 2,4-Д – 0,53–530 г/га, клопиралид – 0,461–461, глифосат – 0,406–406 г/га. Контрольные варианты (без гербицидов) опрыскивали дистиллированной водой. На 7-е и 21-е сутки после обработки анализировали следующие параметры растений: высоту, количество листьев, диаметр стебля, содержание хлорофилла. Накопление сухой массы оценивали на 21-е сутки.

Содержание хлорофилла в интактных листьях оценивали фотометрическим методом при помощи портативного флавонол-хлорофилломера DUALEX (Франция) [24]. Измерения для каждого варианта проводили не менее чем в 20-кратной повторности.

Для определения биологической эффективности гербицидов рассчитывали снижение сухой массы растений (в процентах к контролю) в результате применения препаратов [21, 25, 26].

Все эксперименты были выполнены в трехкратной повторности. Данные на гистограммах представлены как средняя арифметическая величина и ошибка средней величины.

**Результаты и их обсуждение.** В работе исследована биологическая эффективность 2,4-Д, клопиралида и глифосата в отношении амброзии полыннолиственной. На рис. 1 представлено влияние тестируемых гербицидов на накопление сухой массы растений амброзии. Установлено, что 2,4-Д в дозах 53 и 530 г/га оказывает ингибирующий эффект на данный параметр (рис. 1, А). Накопление сухой массы растением на 21-е сутки с момента обработки гербицидом в данных концентрациях составило  $0,20 \pm 0,014 \text{ г}$  и  $0,05 \pm 0,004 \text{ г}$  соответственно. В контроле этот показатель был равен  $0,35 \pm 0,058 \text{ г}$ . Биологическая эффективность 2,4-Д, применяемого в таких дозах, составила 43 и 86 % соответственно. Необходимо отметить, что 2,4-Д при более низкой дозе угнетающего действия на накопление сухой массы растений амброзии не оказывал.

Анализ влияния клопиралида (4,61, 46,1 и 461 г/га) показал, что к 21-м суткам культивирования сухая масса растений после обработки составила 71, 55 и 17 % от контроля соответственно (рис. 1, В). Биологическая эффективность клопиралида в вышеперечисленных вариантах опыта была равной 29, 45 и 83 % соответственно.

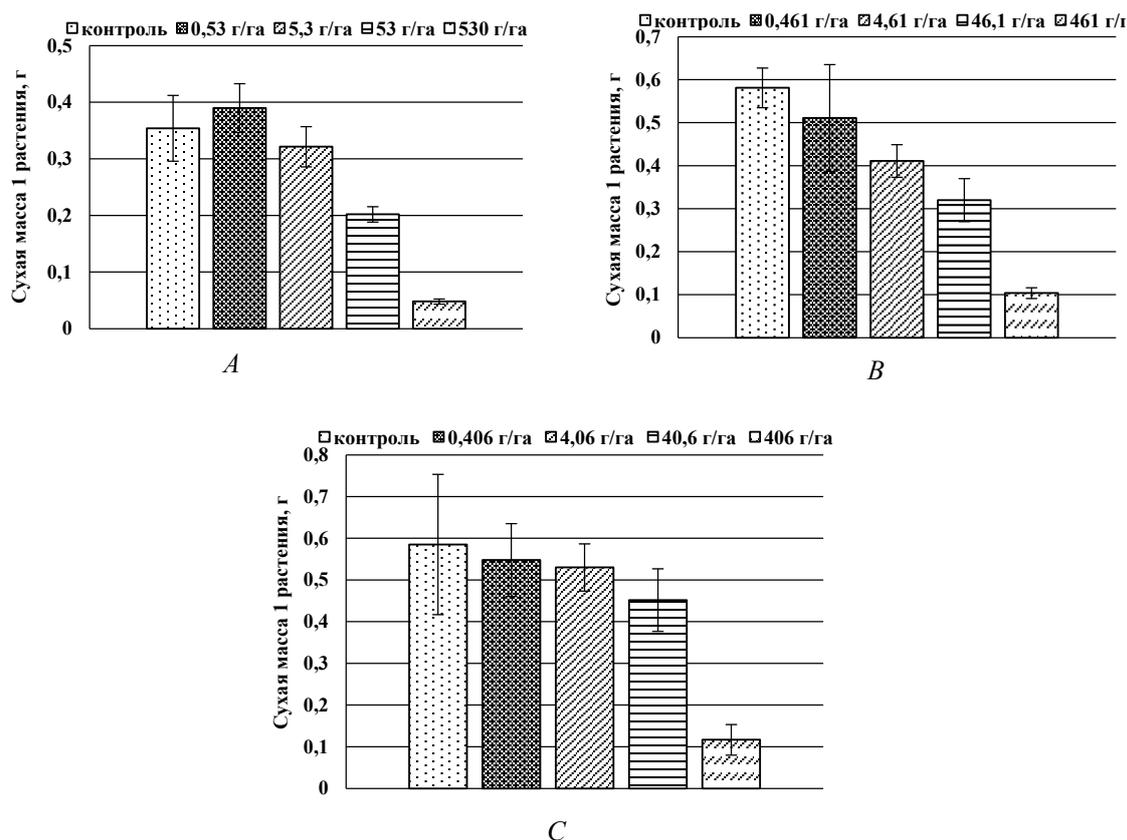


Рис. 1. Накопление сухой массы растениями амброзии полыннолистной через 21 сут после обработки гербицидами 2,4-Д (А), клопиралидом (В) и глифосатом (С)

Fig. 1. Accumulation of dry mass by plants of ragweed treated with herbicides 2,4-D (A), clopyralid (B) and glyphosate (C) after 21 days

При анализе влияния глифосата на накопление сухой массы растений амброзии было установлено, что к 21-м суткам культивирования после обработки данный показатель значительно снижался по сравнению с контролем при действии гербицида только в самой большой из используемых доз и составил 20 % от контроля (рис. 1, С). Таким образом, эффективность глифосата в этом варианте была равной 80 %.

Полученные результаты согласуются с данными, опубликованными ранее в ряде работ. Так, согласно нашим исследованиям, гербицид 2,4-Д в дозе 530 г/га оказывал ингибирующее действие на рост амброзии полыннолистной. Подобный эффект установлен и в работе [21] при исследовании влияния 560 г/га 2,4-Д, что привело к подавлению амброзии на 73 %. Меньшая доза гербицида (280 г/га) ингибировала ростовые процессы сорняка на 57 % [21].

Нами также установлено, что клопиралид в дозе 461 г/га оказывал максимальный ингибирующий эффект на морфофизиологические параметры растений амброзии. В работе [22] авторы исследовали влияние клопиралид на амброзию в более низких дозах (24–96 г/га). В результате были получены данные, свидетельствующие о низкой эффективности гербицида.

В работе [22] было отмечено, что глифосат оказывал эффективное действие на амброзию полыннолистную в дозах от 432 до 864 г/га. Данные результаты также вполне согласуются с нашими. Эффективность применения глифосата для уничтожения амброзии полыннолистной была отмечена и в других исследовательских работах [23].

Далее был предпринят скрининг физиолого-биохимических параметров растений амброзии полыннолистной, обработанных тестируемыми гербицидами. Представлялось важным определить параметр, позволяющий ускорить и оптимизировать процесс тестирования эффективности гербицидов в полевых условиях в связи с коротким вегетационным периодом амброзии полыннолистной. Следует отметить, что при оценке биологической эффективности гербицидов часто

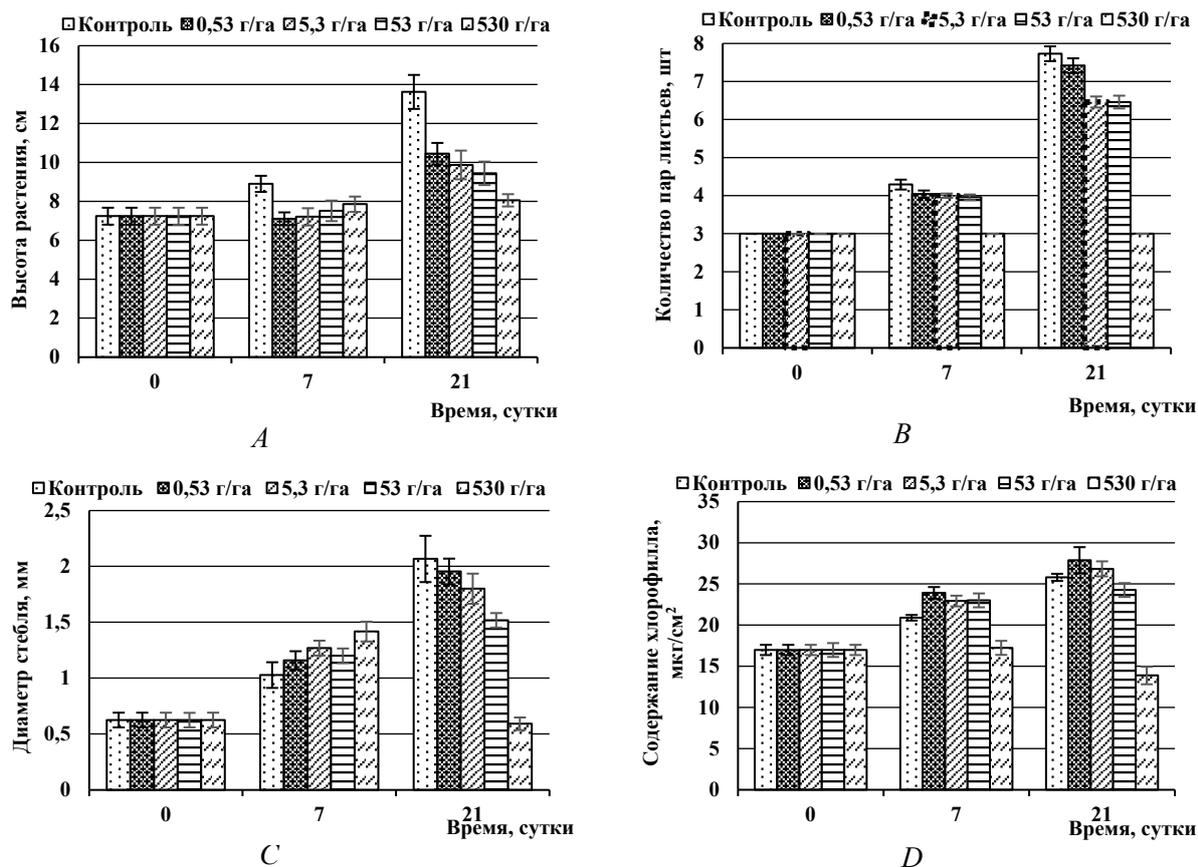


Рис. 2. Влияние 2,4-Д на высоту растений (А), образование листьев (В), диаметр стебля (С) и содержание хлорофилла (D) у амброзии полыннолистной

Fig. 2. The effect of 2,4-D on plant height (A), leaf formation (B), stem diameter (C) and chlorophyll content (D) in *A. artemisiifolia*

используют методические руководства по изучению гербицидов, применяемых в растениеводстве [27]. Согласно ряду таких руководств, важно оценивать признаки повреждения сорных растений (изменение окраски листовых пластинок (осветление, хлороз, покраснение), частичный некроз листовых пластинок и/или полное отмирание листьев, деформацию листовых пластинок (скручивание, гофрированность), повреждение точки роста (хлороз, некроз) и др. [27]. Поэтому и в данной работе изучение нами морфофизиологических параметров (высота, количество листьев, диаметр стебля, содержание хлорофилла), предполагало, что они будут информативными при оценке биологической эффективности гербицидов, что позволит ускорить процесс их тестирования в полевых условиях.

Как видно из рис. 2, где показано влияние 2,4-Д на морфофизиологические параметры амброзии полыннолистной, высота растений во всех вариантах опыта к 7-м суткам с момента обработки гербицидом была меньше контроля примерно на 16 % (рис. 2, А). Следует отметить, что и к 7-м, и к 21-м суткам под действием 2,4-Д в дозах 0,53 и 530 г/га наблюдалось ингибирование роста амброзии. Высота растений в данных вариантах опыта к 21-м суткам была в среднем на 27 % меньше, чем контрольный показатель. Через 21 сут максимальный ингибирующий эффект 2,4-Д отмечался при норме его расхода 530 г/га. Высота растений при этом была на 40 % меньше контроля и не изменилась с момента обработки гербицидом.

Схожий эффект 2,4-Д отмечен и при оценке образования листьев. Так, на 7-е сутки использование гербицида в дозах 0,53 и 53 г/га на 7 % снизило количество образовавшихся листьев по сравнению с контрольной величиной. Количество листьев у амброзии полыннолистной через 7 сут после применения 2,4-Д в дозе 530 г/га вообще не изменилось (рис. 2, В). Спустя 21 сут действие гербицида в дозах 5,3 и 53 г/га привело к уменьшению их количества до 6 пар, в то время

как у контрольных растений образовалось в среднем 8 пар листьев. А в варианте, где применяли 0,53 г/га 2,4-Д, данный параметр не отличался от контроля. Подавление процесса образования листьев амброзии при норме расхода 530 г/га, зафиксированное через 7 сут после обработки, наблюдалось также и через 21 сут после применения гербицида. Количество листьев при этом осталось исходным (3 пары).

Действие гербицида 2,4-Д во всех исследованных дозах через 7 сут с момента применения привело к увеличению диаметра стебля амброзии по сравнению с контролем (рис. 2, *С*). Данное увеличение связано с тем, что 2,4-Д является гормоноподобным гербицидом (синтетический ауксин), который нарушает нормальный рост растений, вызывает разрастание тканей, деформацию клеток флоэмы и ксилемы, в результате чего происходит утолщение стебля [28]. Максимальный диаметр стебля через 7 сут зафиксирован в варианте с применением гербицида в дозе 530 г/га. При этом его значение на 35 % превысило контроль. В то же время через 21 сут отмечено зависящее от дозы снижение диаметра стебля у обработанных растений (рис. 2, *В*). В вариантах с применением 0,53 и 5,3 г/га 2,4-Д достоверных отличий от необработанных растений не наблюдалось, хотя средние значения были ниже контроля. Диаметр стебля амброзии, обработанной гербицидом, при норме расхода 53 г/га был меньше на 27 %. Под действием гербицида в дозе 530 г/га через 21 сут произошло наиболее значительное (на 70 %) уменьшение диаметра стебля по сравнению с контролем. Его значение составило  $0,59 \pm 0,057$  мм. При этом наблюдались растрескивание стебля, потеря тургора и засыхание растений.

Изменение содержания хлорофилла в листьях растений амброзии, обработанных 2,4-Д, представлено на рис. 2, *Д*. Установлено, что применение 2,4-Д в дозах 0,53 и 53 г/га на 7-е сутки привело к стимуляции биосинтеза хлорофилла. Через 7 сут после обработки гербицидом в максимальной дозе 530 г/га количество хлорофилла было на 20 % ниже по сравнению с его содержанием в контрольном варианте и на 26 % меньше, чем в других опытных вариантах. В дальнейшем (21-е сутки после обработки) при максимальной норме расхода было отмечено минимальное содержание хлорофилла –  $13,89 \pm 1,064$  мкг/см<sup>2</sup>, что в почти 2 раза меньше, чем у контрольных растений ( $25,80 \pm 0,440$  мкг/см<sup>2</sup>). В остальных вариантах опыта (0,53 и 53 г/га) содержание хлорофилла не отличалось от контрольных показателей.

Следующим этапом нашей работы было исследование влияния клопиралида на морфофизиологические параметры амброзии. Как видно на рис. 3, *А*, высота растений, обработанных клопиралидом при норме расхода 0,461 и 46,1 г/га, не отличалась от высоты контрольных. А через 7 сут после обработки клопиралидом в максимальной дозе (461 г/га) отмечалось даже незначительное увеличение высоты по сравнению с контролем. Однако через 21 сут с момента обработки клопиралидом в дозах 46,1 и 461 г/га произошла достоверная задержка ростовых процессов. Так, высота растений амброзии, обработанных клопиралидом в дозах 46,1 и 461 г/га, была равной  $9,97 \pm 0,699$  и  $10,09 \pm 0,633$  см соответственно. А в контроле данный показатель составил  $12,5 \pm 0,624$  см. Высота растений, обработанных клопиралидом в дозах 0,461 и 4,61 г/га, не отличалась от контроля (рис. 3, *А*).

Анализируя такой показатель, как количество листьев, следует отметить, что при обработке амброзии клопиралидом в дозе 0,461 г/га на 7-е сутки количество листьев было таким же, как у необработанных растений. В варианте с применением 4,61 г/га гербицида – на 15 % меньше по сравнению с контролем. В дозах 46,1 и 461 г/га клопиралид также негативно влиял на образование листьев у растений амброзии (рис. 3, *В*). Спустя 21 сут после обработки клопиралидом у всех вариантов наблюдалось ингибирование процесса образования листьев. При дозах гербицида 0,461 и 4,61 г/га к 21-м суткам эксперимента количество листьев было на 30–40 % меньше, чем в контроле. Максимальное ингибирование (листья не образовывались) отмечено в варианте с применением клопиралида в дозе 461 г/га.

Диаметр стебля в вариантах с использованием 0,461 и 4,61 г/га клопиралида снижался, при норме расхода 46,1 г/га не отличался от контроля, а при дозе 461 г/га превышал контрольные значения через 7 сут после обработки, что, возможно, связано с ауксин-подобным действием гербицида. Достоверных различий диаметра стебля контрольных и опытных растений амброзии через 21 сут после обработки гербицидом уже не наблюдалось (рис. 3, *С*).

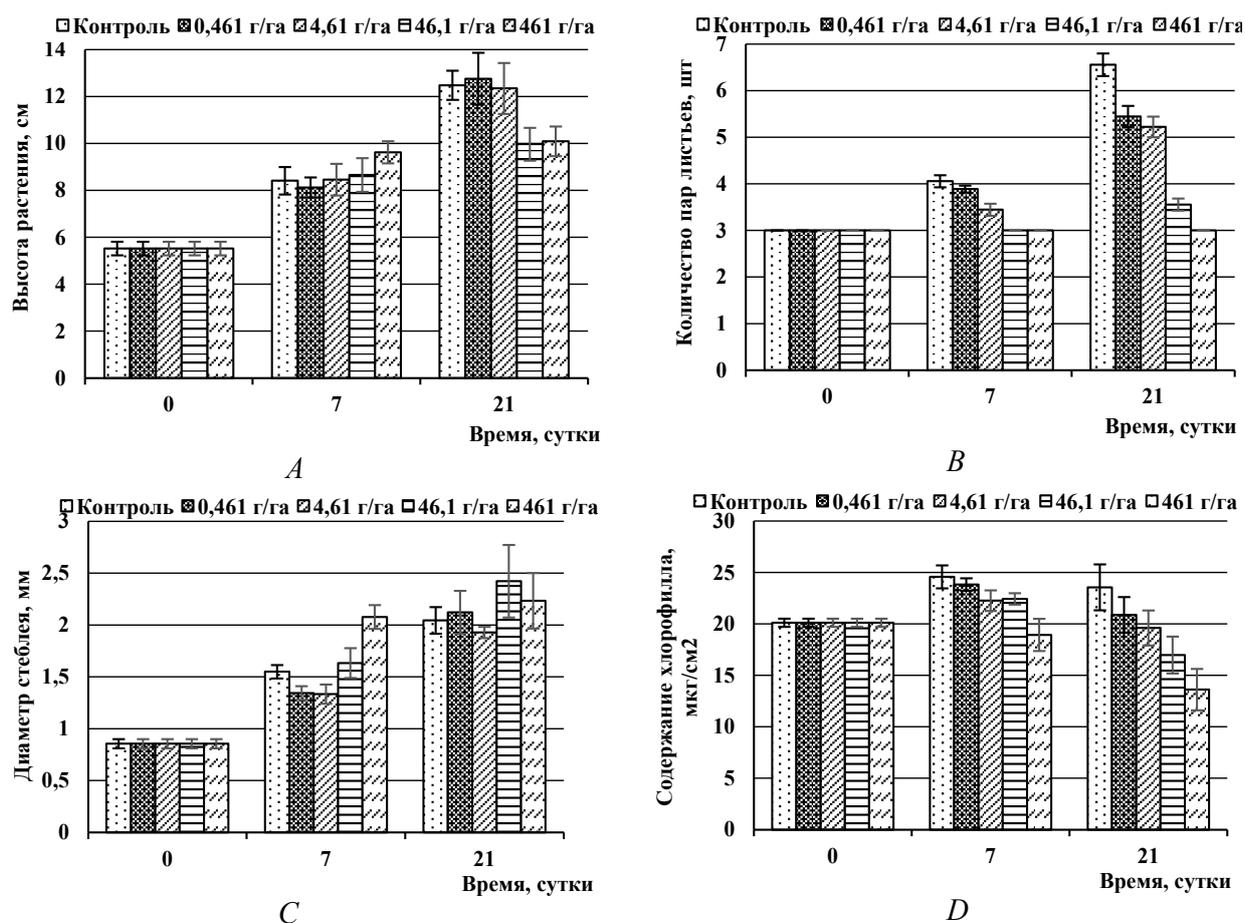


Рис. 3. Влияние клопиралида на высоту растений амброзии полыннолистной (A), образование листьев (B), диаметр стебля (C) и содержание хлорофилла (D) у амброзии полыннолистной

Fig. 3. The effect of clopyralid on the height of ragweed plants (A), leaf formation (B), stem diameter (C) and chlorophyll content (D) in *A. artemisiifolia*

В то же время содержание хлорофилла (рис. 3, D) под действием клопиралида снижалось по сравнению с контролем через 7 и 21 сут после обработки растений (особенно при высоких дозах гербицида – 46,1 и 461 г/га). Через 21 сут содержание хлорофилла в вариантах с использованием доз 46,1 и 461 г/га составило  $16,97 \pm 1,789$  и  $13,61 \pm 2,007$  мкг/см<sup>2</sup> соответственно, а в контроле было равным  $23,56 \pm 2,225$  мкг/см<sup>2</sup>. У растений остальных вариантов опыта количество хлорофилла достоверно не отличалось от контрольного показателя, хотя средние значения были ниже.

Далее было исследовано влияние глифосата на высоту, образование листьев, диаметр стебля и содержание хлорофилла в листьях растений амброзии полыннолистной (рис. 4).

Установлено, что высота, количество пар листьев и диаметр стебля растений при обработке глифосатом в дозах 0,406 и 40,6 г/га достоверно не отличались от контрольных показателей. Только содержание хлорофилла было ниже по сравнению с контролем при норме расхода гербицида 40,6 и 406 г/га на 7-е сутки и во всех вариантах опыта через 21 сут после обработки растений.

Существенный ингибирующий эффект на все исследованные показатели через 7 и 21 сут после обработки оказал глифосат лишь в дозе 406 г/га. Действие гербицида в данной концентрации привело к прекращению роста растений амброзии. Высота осталась на уровне данного параметра в момент обработки и составила в среднем около 5 см (рис. 4, A). Новые листья не образовывались (рис. 4, B), диаметр стебля не увеличивался (рис. 4, C). Снижение содержания хлорофилла у обработанных растений (глифосат 406 г/га) по сравнению с контролем составило около 40 % (рис. 4, D).

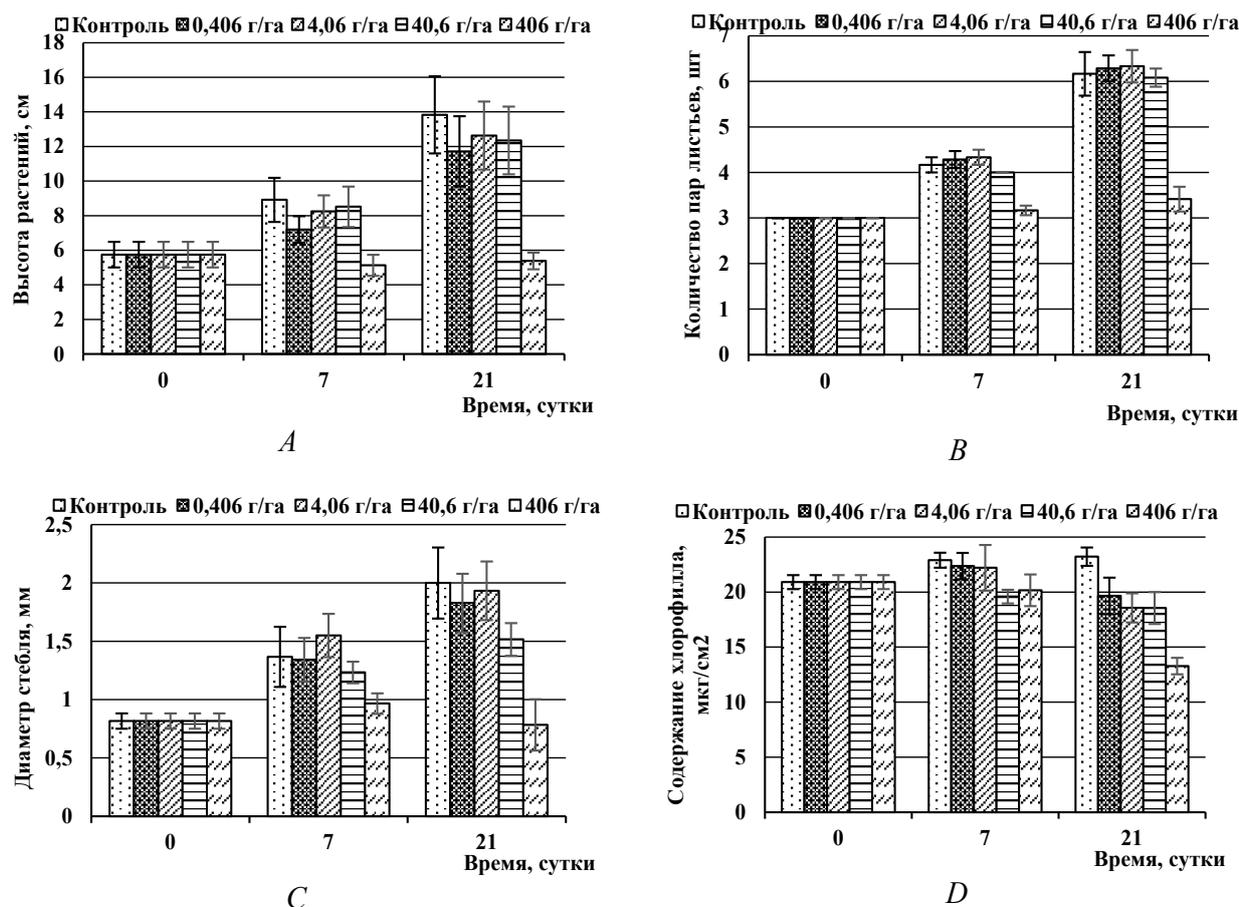


Рис. 4. Влияние глифосата на высоту растений амброзии полыннолистной (А), образование листьев (В), диаметр стебля (С) и содержание хлорофилла (D) у амброзии полыннолистной

Fig. 4. The effect of glyphosate on the height of ragweed plants (A), leaf formation (B), stem diameter (C) and chlorophyll content (D) in *A. artemisiifolia*

Анализ полученных данных показал, что из всех исследованных физиологических параметров только содержание хлорофилла на 7-е сутки изменялось в соответствии с ингибирующим действием гербицидов в определенных дозах. Кроме того, содержание хлорофилла определяли с использованием портативного прибора DUALEX, что позволило быстро оценить количество основных фотосинтетических пигментов в растении в полевых условиях и ускорить оценку эффективности действия гербицидов.

**Заклучение.** Установлено, что при обработке растений амброзии полыннолистной, имеющих три пары листьев, 2,4-Д, клопиралид и глифосат оказывали максимальный ингибирующий эффект на морфофизиологические параметры в дозах 530, 461 и 406 г/га соответственно. Биологическая эффективность гербицидов для 2,4-Д составила 86 %, для клопиралид – 83, для глифосата – 80 %. Таким образом, для подавления амброзии полыннолистной можно рекомендовать использование гербицидов из перечня разрешенных к применению на территории Республики Беларусь на основе действующих веществ: 2,4-Д, клопиралид и глифосат в дозах не менее 530, 461 и 406 г/га соответственно. Выявлено, что для ускорения и оптимизации процесса тестирования эффективности гербицидов против амброзии полыннолистной в условиях открытого грунта может быть использован экспресс-метод определения содержания хлорофилла портативным прибором флавонол-хлорофилломером DUALEX. Данный показатель позволит прогнозировать эффективность гербицидов уже на 7-е сутки после обработки, что существенно ускорит подбор препаратов и норм их расхода для подавления амброзии полыннолистной в полевых условиях.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность сотруднику кафедры ботаники биологического факультета БГУ канд. биол. наук, доценту Максиму Анатольевичу Джусу за идентификацию растений амброзии полыннолистной и помощь в сборе семенного материала.

Результаты были получены в рамках выполнения проекта «Оценить инвазионный потенциал и разработать способы предотвращения распространения *Ambrosia artemisiifolia* L. в различных регионах Беларуси» ОНТП «Интродукция, озеленение, экобезопасность» на 2016–2020 годы (подпрограмма «Противодействие экспансии чужеродных видов, организмов и патогенов, минимизация ущербов для природного разнообразия, экономики и здоровья человека») при поддержке Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды (руководитель канд. биол. наук, доцент О. В. Молчан).

**Acknowledgements.** The authors are grateful to the employee of the Department of Botany of the Biological Faculty of BSU, Ph. D., Associate Professor Maxim Anatolyevich Dzhus for his help in identification of ragweed plants and assistance in collecting seed material.

The results were obtained in the framework of the project “Assess the invasive potential and develop ways to prevent the spread of *Ambrosia artemisiifolia* L. in various regions of Belarus”. Separate scientific and practical project “Introduction, gardening, environmental safety” for 2016–2020 (subprogram “Countering the expansion of alien species, organisms and pathogens, minimizing damage to natural diversity, the economy and human health”) with the support of the Ministry natural resources and environmental protection.

### Список использованных источников

1. Растения-агрессоры. Инвазионные виды на территории Беларуси / Д. В. Дубовик [и др.]. – Минск : Беларус. энцыкл. імя Пётруся Броўкі, 2017. – 190 с.
2. Петрова, С. Е. Онтогенез карантинных инвазионных сорняков *Ambrosia artemisiifolia* L. и *A. trifida* L. (Asteraceae) в Московской области / С. Е. Петрова // Рос. журн. биол. инвазий. – 2019. – Т. 12, № 3. – С. 80–95.
3. Allelopathic potential of segetal and ruderal invasive alien plants / N. Novak [et al.] // J. Centr. Eur. Agricult. – 2018. – Vol. 19, N 2. – P. 408–422. <https://doi.org/10.5513/jcea01/19.2.2116>
4. Vidotto, F. Allelopathic effects of *Ambrosia artemisiifolia* L. in the invasive process / F. Vidotto, F. Tesio, A. Ferrero // Crop Protection. – 2013. – Vol. 54. – P. 161–167.
5. Prospects for biological control of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe: learning from the past / E. Gerber [et al.] // Weed Res. – 2011. – Vol. 51, N 6. – P. 559–573. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00879.x>
6. Мониторинг распространения *Ambrosia artemisiifolia* L. в луговых фитоценозах Кабардино-Балкарской Республики (Центральный Кавказ) / В. А. Чадаева [и др.] // Рос. журн. биол. инвазий. – 2018. – Т. 11, № 1. – С. 130–140.
7. Афонин, А. Н. Характеристика частоты встречаемости и обилия амброзии полыннолистной (*Ambrosia artemisiifolia* L.) в связи с оценкой потенциала ее распространения на европейской территории России / А. Н. Афонин, Ю. А. Федорова, Ю. С. Ли // Рос. журн. биол. инвазий. – 2019. – Т. 12, № 2. – С. 30–38.
8. Priszter, S. Adventív gyomnövényeink terjedése / S. Priszter. – Budapest : Mezőgazdasági Kiadó, 1960. – 37 p.
9. Comtois, P. Ragweed (*Ambrosia* sp.): the phoenix of allergophytes / P. Comtois // 6th International Congress on Aerobiology. Satellite Symposium Proceedings: Ragweed in Europe. – Perugia, 1998. – P. 3–5.
10. Juha'sz, M. History of ragweed in Europe / M. Juha'sz // 6th International Congress on Aerobiology. Satellite Symposium Proceedings: Ragweed in Europe. – Perugia, 1998. – P. 11–14.
11. Rybnicek, O. Ambrosia (Ragweed) in Europe / O. Rybnicek, S. Jäger // Allergy Clin. Immunol. Int. – 2001. – Vol. 13, N 2. – P. 0060–0066. <https://doi.org/10.1027/0838-1925.13.2.60>
12. Couturier, P. Dispersion of ragweed in the Drome-Ardeche region / P. Couturier // Allergie Immunol. – 1992. – Vol. 24, N 1. – P. 27–31.
13. Jäger, S. Trends in Ambrosia pollen counts vs. RAST positivity in a Viennese population for the years 1984–1999 / S. Jäger, U. vcBerger // 2nd Eur. symp. aerobiol., Vienna 2000. Abstr. Vol. (ed. S. Jäger), M808. – Org. Comm., Vienna.
14. Seliger, A. K. Ragweed in Slovenia / A. K. Seliger // 6th International congress on aerobiology. Satellite symposium proceedings: Ragweed in Europe. – Perugia, 1998. – 39–41.
15. Логинов, В. Ф. Климатические условия Беларуси за период инструментальных наблюдений / В. Ф. Логинов // Наука и инновации. – 2016. – № 9. – С. 25–29.
16. Государственный кадастр растительного мира Республики Беларусь. Основы кадастра. Первичное обследование 2002–2017 гг. / О. М. Масловский [и др.] ; науч. ред. А. В. Пугачевский. – Минск : Беларус. навука, 2019. – 597 с.
17. Гусев, А. П. Вторжение *Ambrosia artemisiifolia* L. в ландшафты юго-востока Беларуси / А. П. Гусев // Рос. журн. биол. инвазий. – 2019. – № 1. – С. 29–37.
18. Рекомендации по борьбе с амброзией полыннолистной / Н. Г. Осенний [и др.]. – Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2019. – 39 с.
19. Glyphosate-resistant giant ragweed (*Ambrosia trifida*) control in dicamba-tolerant soybean / J. P. Vink [et al.] // Weed Technol. – 2012. – Vol. 26, N 3. – P. 422–428. <https://doi.org/10.1614/WT-D-11-00184.1>
20. 24-D past, present, and future : a review / M. A. Peterson [et al.] // Weed Technol. – 2016. – Vol. 30, N 2. – P. 303–345. <https://doi.org/10.1614/WT-D-15-00131.1>
21. Ganie, Z. A. Interaction of 2,4-D or dicamba with glufosinate for control of glyphosate-resistant giant ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in glufosinate-resistant maize (*Zea mays* L.) / Z. A. Ganie, A. J. Jhala // Front Plant Sci. – 2017. – Vol. 8. – Art. 1207. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01207>

22. Sölter, U. Combining cutting and herbicide application for *Ambrosia artemisiifolia* control / U. Sölter, S. Mathiassen, A. Verschwele // *Julius-Kühn-Archiv*. – 2016. – Vol. 452. – P. 210–216.
23. Glyphosate-resistant common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) control with postemergence herbicides and glyphosate dose response in Soybean in Ontario / A. C. van Wely [et al.] // *Weed Technol.* – 2015. – Vol. 29, N 3. – P. 380–389. <https://doi.org/10.1614/WT-D-14-00160.1>
24. A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids / Z. G. Cerovic [et al.] // *Physiol. Plantarum*. – 2012. – Vol. 146, N 3. – P. 251–260. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01639.x>
25. Попов, С. Я. Основы химической защиты растений / С. Я. Попов, Л. А. Дорожкина, В. А. Калинин. – М. : Арт-Лион, 2003. – 208 с.
26. Зинченко, В. А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность / В. А. Зинченко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : КолосС, 2012. – 247 с.
27. Спиридонов, Ю. Я. Методическое руководство по изучению гербицидов, применяемых в растениеводстве : метод. рекомендации / Ю. Я. Спиридонов, Е. Г. Ларина, В. Г. Шестаков. – М. : Печатный Город, 2009. – 247 с.
28. Куликова, Н. Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения / Н. Ф. Куликова, Г. Ф. Лебедева. – М. : ЛИБРОКОМ, 2010. – 150 с.

## References

1. Dubovik D. V., Lebed'ko V. N., Parfenov V. I., Savchuk S. S., Skuratovich A. N., Orsich O. I., Orlov A. A. *Plants are aggressors. Invasive species in Belarus*. Minsk, Belaruskaya Entsylapedyya Publ., 2017. 190 p. (in Russian).
2. Petrova S. E. Ontogenesis of quarantine invasive weeds *Ambrosia artemisiifolia* L. and *A. trifida* L. (Asteraceae) in the Moscow region. *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii = Russian journal of biological invasions*, 2019, vol. 12, no. 3, pp. 80–95 (in Russian).
3. Novak N., Novak M., Barić K., Šćepanović M., Ivić D. Allelopathic potential of segetal and ruderal invasive alien plants. *Journal of Central European Agriculture*, 2018, vol. 19, no. 2, pp. 408–422. <https://doi.org/10.5513/jcea01/19.2.2116>
4. Vidotto F., Tesio F., Ferrero A. Allelopathic effects of *Ambrosia artemisiifolia* L. in the invasive process. *Crop Protection*, 2013, vol. 54, pp. 161–167.
5. Gerber E., Schaffner U., Gassmann A., Hinz HL., Seier M., Müller-Schärer H. Prospects for biological control of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe: learning from the past. *Weed Research*, 2011, vol. 51, pp. 559–573. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00879.x>
6. Chadaeva V. A., Shkhagapsoeva K. A., Tsepkova N. L., Shkhagapsoev S. Kh. Monitoring the distribution of *Ambrosia artemisiifolia* L. in meadow phytocenoses of the Kabardino-Balkarian Republic (Central Caucasus). *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii = Russian journal of biological invasions*, 2018, vol. 11, no. 1, pp. 130–140 (in Russian).
7. Afonin A. N., Fedorova Yu. A., Li Yu. S. Characterization of the frequency and abundance of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) in connection with the assessment of its distribution potential in the European territory of Russia. *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii = Russian journal of biological invasions*, 2019, vol. 12, no. 2, pp. 30–38 (in Russian).
8. Priszter, S. *Adventív gyomnövényeink terjedése*. Budapest, Mezőgazdasági Kiadó, 1960. 37 p.
9. Comtois P. Ragweed (*Ambrosia* sp.): the phoenix of allergophytes. *6th International Congress on Aerobiology. Satellite Symposium Proceedings: Ragweed in Europe*. Perugia, 1998, pp. 3–5.
10. Juha'sz M. History of ragweed in Europe. *6th International Congress on Aerobiology. Satellite Symposium Proceedings: Ragweed in Europe*. Perugia, 1998, pp. 11–14.
11. Rybnicek O., Jäger S. *Ambrosia* (Ragweed) in Europe. *Allergy and Clinical Immunology International – Journal of the World Allergy Organization*, 2001, vol. 13, no. 2, pp. 0060–0066. <https://doi.org/10.1027/0838-1925.13.2.60>
12. Couturier P. Dispersion of ragweed in the Drome-Ardeche region. *Allergy and Immunology*, 1992, vol. 24, no. 1, pp. 27–31.
13. Jäger S., Berger U. Trends in *Ambrosia* pollen counts vs. RAST positivity in a Viennese population for the years 1984–1999. 2nd Eur. symp. aerobiol., Vienna 2000. Abstr. vol. (ed. S. Jäger), M808, Org. Comm., Vienna.
14. Seliger A. K. Ragweed in Slovenia. *6th International congress on aerobiology. Satellite symposium proceedings: Ragweed in Europe*. Perugia, 1998, pp. 39–41.
15. Loginov V. F. Climatic conditions of Belarus for the period of instrumental observations. *Nauka i innovatsii* [Science and innovation], 2016, no. 9, pp. 25–29 (in Russian).
16. Maslovskii O. M., Levkovich A. V., Sysoi I. P., Kolesnikova M. P., Rodionov P. A., Chumakov L. S., Shimanovich R. V., Grigor'ev K. S., Giryayev A. S., Pugachevskii A. V. *The state cadastre of the plant world of the Republic of Belarus. Inventory basics. Initial examination of 2002–2017*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2019. 597 p. (in Russian).
17. Gusev A. P. Invasion of *Ambrosia artemisiifolia* L. in the landscapes of southeastern Belarus. *Rossiiskii zhurnal biologicheskikh invazii = Russian journal of biological invasions*, 2019, no. 1, pp. 29–37 (in Russian).
18. Osennii N. G., An V. B., Nosik A. V., Pchel'nik O. A. *Recommendations for the control of ragweed*. Simferopol', Izdatel'stvo Tipografiya "Arial" Publ., 2019. 39 p. (in Russian).
19. Vink J. P., Soltani N., Robison D. E., Tardif F. J., Lawton M. B., Sikkema P. H. Glyphosate-resistant giant ragweed (*Ambrosia trifida*) control in dicamba-tolerant soybean. *Weed Technology*, 2012, vol. 26, no. 3, pp. 422–428. <https://doi.org/10.1614/WT-D-11-00184.1>

20. Peterson M. A., McMaster S. A., Riechers D. E., Skelton J., Stahlman P. W. 24-D past, present, and future : a review. *Weed Technology*, 2016, vol. 30, no. 2, pp. 303–345. <https://doi.org/10.1614/WT-D-15-00131.1>
21. Ganie Z. A., Jhala A. J. Interaction of 2,4-D or dicamba with glufosinate for control of glyphosate-resistant Giant Ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in glufosinate-resistant maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Plant Science*, 2017, vol. 8, art. 1207. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01207>
22. Sölter U., Mathiassen S., Verschwele A. Combining cutting and herbicide application for *Ambrosia artemisiifolia* control. *Julius-Kühn-Archiv*, 2016, vol. 452, pp. 210–216.
23. Van Wely A., Soltani N., Robinson D., Hooker D., Lawton M., Sikkema P. Glyphosate-resistant common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) control with postemergence herbicides and glyphosate dose response in Soybean in Ontario. *Weed Technology*, 2015, vol. 29, no. 3, pp. 380–389. <https://doi.org/10.1614/WT-D-14-00160.1>
24. Cerovic Z., Masdoumier G., Ghazlen N. B., Latouche G. A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids. *Physiologia Plantarum*, 2012, vol. 146, no. 3, pp. 251–260. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01639.x>
25. Popov S. Ya., Dorozhkina L. A., Kalinin V. A. *Fundamentals of chemical plant protection*. Moscow, Art-Lion Publ., 2003. 208 p. (in Russian).
26. Zinchenko V. A. *Chemical protection of plants: tools, technology and environmental safety. 2nd ed.* Moscow, KolosS Publ., 2012. 247 p. (in Russian).
27. Spiridonov Yu. Ya., Larina E. G., Shestakov V. G. *Guidelines for the study of herbicides used in crop production*. Moscow, Pechatnyi Gorod Publ., 2009. 247 p. (in Russian).
28. Kulikova N. F., Lebedeva G. F. *Herbicides and environmental aspects of their use*. Moscow, LIBROKOM Publ., 2010. 150 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)

Павлютина Нина Борисовна – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

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)

Nina B. Pavlyutina – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

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 630\*433.3  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-473-488>

Поступила в редакцию 10.07.2019  
Received 10.07.2019

**В. П. Шуканов, И. А. Машкин, Л. А. Корытько, Е. В. Мельникова, С. Н. Полянская**

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

### **ПОВЫШЕНИЕ КАЧЕСТВА И БОЛЕЗНЕУСТОЙЧИВОСТИ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ХВОЙНЫХ ПОРОД ПРИ ОБРАБОТКЕ РОСТРЕГУЛИРУЮЩИМИ ПРЕПАРАТАМИ**

**Аннотация.** Статья посвящена изучению эффективности применения агротехнических приемов, основанных на комплексном использовании новых отечественных регуляторов роста, макро- и микроудобрений, для повышения качества и устойчивости посадочного материала хвойных пород к болезням и неблагоприятным факторам среды.

В рамках выполненной работы изучена возможность применения регуляторов роста Экосил Микс, Экосил Плюс, нанопрепарата Наноплант и их смесей с параллельным внесением в почву Карбамида. Для этого проведен ряд лабораторных исследований и заложены опытно-производственные объекты на сеянцах и саженцах сосны и ели в постоянных питомниках ГЛХУ «Молодечненский лесхоз» и ГЛХУ «Кличевский лесхоз».

В результате лабораторных исследований выявлено положительное влияние рострегулирующих веществ на основе препарата Экосил на начальное развитие сеянцев сосны и ели после предпосевной обработки. Внекорневые обработки сеянцев, выращенных в лабораторных условиях, различными формами регуляторов роста на основе препаратов Экосил индуцировали в растениях адаптационные физиолого-биохимические процессы.

На основании лабораторного отбора определено, что для внекорневой обработки растений (путем опрыскивания по вегетирующей массе) в полевых условиях предпочтительно использовать препараты Экосил Микс (1,0 л/га), Экосил Плюс (1,5 л/га) и Наноплант (0,1 л/га).

Обработки по вегетирующей массе стимулировали увеличение высоты и удлинение главного корня одно- и двухлетних сеянцев сосны и ели в открытом и закрытом грунте. Кроме того, исследованные препараты способствовали стабилизации клеточных мембран растений и активации фотосинтеза. Для всех исследуемых экспериментальных образцов характерно снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов мембран. С уровнем перекисного окисления липидов мембран коррелировала степень выхода водорастворимых веществ из тканей растений. Стабилизация клеточных мембран под влиянием рострегулирующих препаратов способствовала повышению болезнеустойчивости посадочного материала, что выразилось в снижении степени распространения болезней в посевах.

**Ключевые слова:** сеянцы сосны и ели, регуляторы роста, болезнеустойчивость, предпосевная и внекорневая обработка

**Для цитирования:** Повышение качества и болезнеустойчивости посадочного материала хвойных пород при обработке рострегулирующими препаратами / В. П. Шуканов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 473–488. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-473-488>

**Vladimir P. Shukanov, Ivan A. Mashkin, Larisa A. Korytsko, Elena V. Melnikowa, Svetlana N. Polyanskaya**

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

### **IMPROVING THE QUALITY AND DISEASE RESISTANCE OF PLANTING MATERIAL WHEN TREATING WITH GROWTH REGULATORS**

**Abstract.** In the research work performed, the influence of the growth regulators Ecosil Plus, Ecosil Mix, and the nanoplant Nanoplant, as well as composite compositions based on them on the growth and development of pine and spruce seedlings was studied. The effect of drugs and protective-stimulating compositions on the degree of infection of planting material by phytopathogenic fungi, on changes in physiological and biochemical parameters of disease resistance and on biometric indicators of seedlings has been studied.

As a result of laboratory studies, a positive effect of growth regulating substances based on the Ecosil growth regulator on the initial development of pine and spruce seedlings after presowing treatment was revealed. On the development of the root system, Ecosil Mix provided greater efficiency, causing an increase in the length of the main root by 39 and 56 % for pine and spruce, respectively. And Ecosil Plus more strongly influenced the formation of the above ground part of seedlings, raising the height of plants by 14 % in pine and by 26 % in spruce.

Foliar treatments of pine and spruce seedlings grown under laboratory conditions with various forms of growth regulators based on the Ekosila growth regulator induced adaptive physiological and biochemical processes in plants. In needles of pine and spruce under their influence, the amount of pigments increased on average by 50–60 %. The level of lipid peroxidation of membranes and the yield of water-soluble substances decreased in plants by 30–50 %, which indicates the membranotropic effect of growth regulators.

Based on the laboratory selection, it was found that for foliar treatment of plants it is preferable to use Ecosil Mix (1.0 l/ha), Ecosil Plus (1.5 l/ha) and Nanoplant (0.1 l/ha) which during the two vegetation periods were investigated in the nurseries of Molodechno and Klichev forestry. Studies conducted in the conditions of open and closed ground showed that all the studied growth regulators and their mixtures have a positive effect on the growth of seedlings, as well as improve the physiological and biochemical indicators of disease resistance.

**Keywords:** seedlings of pine and spruce, growth regulators, disease resistance, pre-sowing and foliar treatment

**For citation:** Shukanov V. P., Mashkin I. A., Korytsko L. A., Melnikova Ye. V., Polyanskaya S. N. Improving the quality and disease resistance of planting material when treating with growth regulators. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 473–488 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-473-488>

**Введение.** Одной из основных проблем лесного хозяйства Республики является воспроизводство лесных ресурсов, которое осуществляется за счет естественного и искусственного лесовозобновления. Последнее направление приобретает все большие объемы и значимость, поскольку способствует созданию высокопродуктивных насаждений наиболее ценного видового состава. В настоящее время общая площадь лесного фонда Республики Беларусь составляет приблизительно 9,5 млн га, из которых более 8 млн га находятся в ведении Министерства лесного хозяйства. Основной лесобразующей породой в лесном фонде Республики является сосна, занимающая 50,6 % покрытых лесом земель. Также достаточно широко распространены в белорусских лесах береза (23,2 %), ель (9,3 %), ольха черная (8,6 %), дуб (3,4 %). При этом уже сейчас искусственно созданные леса занимают 23,9 % от лесного фонда. Эффективность создания искусственных насаждений при лесоразведении и лесовосстановлении во многом определяется качеством посадочного материала. Поэтому проблема получения качественного посадочного материала для искусственного лесовосстановления всегда актуальна. Следовательно, разработка мероприятий по повышению качества семян и саженцев древесных культур в лесном хозяйстве является одним из приоритетных направлений научных исследований [1].

В лесовосстановлении и лесоразведении чаще всего используют в качестве посадочного материала одно- и двухлетние сеянцы. Исследования и производственный опыт показывают, что молодой, но достаточно крупный посадочный материал лучше приживается и противостоит заглушению травянистой растительностью. Он успешнее адаптируется в новых условиях, а экономически процесс выращивания одно- и двухлетних растений без перевалки менее затратен, к тому же высадку небольших растений можно производить механизированно, что снижает себестоимость лесопосадочных работ и позволяет провести посадку в кратчайшие сроки [2].

Применение крупномерных саженцев для лесокультурных работ также перспективно и имеет свои положительные стороны. В этом случае ускоряется выращивание искусственных насаждений, а часть работ с лесокультурной площади переносится в питомник, где легче механизировать и автоматизировать технологические операции. Саженцы по сравнению с сеянцами имеют больший диаметр стволика, где накапливаются запасные питательные вещества. Поэтому такие саженцы хорошо приживаются, а также имеют меньшее послепосадочное торможение роста в высоту, чем сеянцы [3].

В настоящее время посадочный материал выращивается в лесных питомниках в открытом и закрытом грунте. Сеянцы, выращенные в естественных условиях (открытый грунт), более устойчивы к неблагоприятным факторам среды при создании лесных культур. Приживаемость лесных культур, созданных таким посадочным материалом, в среднем составляет 87–90 %. Однако процесс выращивания посадочного материала хвойных пород в открытом грунте лесных питомников во многом зависит от внешних факторов. Если плодородие почвы можно повысить путем внесения органических и минеральных удобрений, то воздействовать на погодные условия невозможно. Поэтому возникает необходимость влиять на выращиваемые сеянцы путем различных приемов, позволяющих ускорить их рост и повысить устойчивость к болезням и неблагоприятным условиям.

гоприятным воздействиям внешней среды [2]. В свою очередь выращивание посадочного материала в закрытом грунте позволяет в 2–3 раза увеличить грунтовую всхожесть семян, уменьшить расход семенного материала и сократить срок выращивания стандартного посадочного материала за счет контролируемых условий. Однако технология выращивания посадочного материала в закрытом грунте имеет ряд минусов, одним из которых является недостаточная устойчивость сеянцев к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды. Для повышения устойчивости сеянцев используют агротехнические приемы, включающие обработку регуляторами роста, макро- и микроудобрениями [4, 5].

Цель работы – изучение эффективности применения агротехнических приемов, основанных на комплексном использовании новых отечественных регуляторов роста, а также макро- и микроудобрений, для повышения качества и устойчивости посадочного материала хвойных пород к болезням и неблагоприятным факторам среды.

**Объекты и методы исследования.** Объектами исследования являлись семена и сеянцы хвойных пород (сосна и ель), выращенные в лабораторных условиях, а также одно- и двухлетние сеянцы и саженцы, выращиваемые в открытом и закрытом грунте постоянных питомников Молодечненского и Кличевского лесхозов.

Географическое расположение лесхозов, состав почвы (дерново-подзолистые), климатические условия, характеризующиеся умеренно-континентальным климатом, вполне благоприятствуют произрастанию древесных, в том числе хвойных, пород растений [6].

Для проведения исследований на разных этапах работы использовали отечественные регуляторы роста на основе препаратов Экосил (Экосил Плюс, Экосил Микс), Эпин Плюс (в качестве эталона), нанопрепарат Наноплант и азотное удобрение Карбамид.

Препараты на основе Экосила – Экосил Плюс (тритерпеновые кислоты, 2,5 г/л) и Экосил Микс (тритерпеновые кислоты, 5 г/л) являются полифункциональными регуляторами роста и фитоактиваторами физиологических и биохимических процессов в растениях, иммуномодуляторами, антидепрессантами с четко выраженными фунгицидными свойствами. Основным действующим веществом данных препаратов являются тритерпеновые кислоты, дополненные комплексом микроэлементов и гуминовых веществ [7].

Эпин Плюс (гомобрассинолид, 0,25 г/л) – синтетический аналог природного фитогормона, механизм действия которого заключается в активизации в растениях собственных фитогормонов, необходимых на разных стадиях развития. Препарат является антистрессовым адаптогеном, стимулятором иммунной системы [5].

Микроудобрение Наноплант – отечественный микроэлементный нанопрепарат, который по эффективности не уступает лучшим мировым аналогам. Действующее вещество микроудобрения Наноплант – наночастицы соединений микроэлементов, которые обладают свойством сверхпроницаемости через защитные клеточные мембраны растения, что позволяет им свободно проникать во внутриклеточные органеллы и участвовать в синтезе ферментов, необходимых для ускорения обменных процессов в растении [8].

Карбамид (мочевина) – удобрение с амидной формой азота. Это самое концентрированное из всех азотных удобрений. Выпускается в гранулированном виде и обладает высокой растворимостью. Карбамид является биологически кислым удобрением, но после усвоения растением азота в почве не остается ни кислотных, ни щелочных остатков этого удобрения [2].

Отбор наиболее эффективных рострегулирующих препаратов и их дозировок проводили на сеянцах сосны и ели, выращенных в лабораторных условиях. Для этого была осуществлена предпосевная обработка семян (путем замачивания) и внекорневая обработка сеянцев сосны и ели исследуемыми препаратами в различной дозировке с последующей оценкой биометрических и некоторых биохимических параметров. Затем в течение двух вегетационных периодов было изучено влияние внекорневой обработки данными препаратами и их композиционными составами с параллельным внесением в почву Карбамида (30 кг/га) на качество и болезнеустойчивость сеянцев и саженцев хвойных пород. С этой целью в двух постоянных питомниках Молодечненского и Кличевского лесхозов были заложены опытно-производственные объекты. В первый год под опыты было занято 400 м<sup>2</sup> (Молодечненский лесхоз) и 168 м<sup>2</sup> (Кличевский лесхоз)

площадей питомников. На следующий вегетационный период исследования проведены на площади 48 м<sup>2</sup> в питомнике Молодечненского лесхоза и на 48 м<sup>2</sup> в питомнике Кличевского лесхоза.

В июне – начале августа проводили двух-трехкратную внекорневую обработку семян с интервалом в 20–30 дней путем опрыскивания вегетирующей массы растений (расход рабочей жидкости – 200 л/га). Контролем служили необработанные семена хвойных пород. Качество посадочного материала оценивали по биометрическим параметрам, степени инфицирования семян грибными фитопатогенами и некоторым биохимическим показателям (количество фотосинтетических пигментов, содержание продуктов перекисного окисления липидов и уровень выхода водорастворимых веществ из хвои), характеризующим болезне- и стрессоустойчивость растений [9–11]. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты лабораторных исследований выявили положительное влияние (в большей или меньшей степени) всех рострегулирующих веществ на начальное развитие семян сосны и ели после предпосевной обработки (табл. 1). Все препараты вызывали удлинение главного корня и увеличение высоты надземной части растений. Причем Экосил Микс был более эффективен для развития корневой системы – длина главного корня возрастала на 39 и 56 % для сосны и ели соответственно. Экосил Плюс сильнее влиял на формирование надземной части семян, высота растений увеличивалась на 14 % у сосны и на 26 % у ели. При применении указанных препаратов наблюдалась и более высокая степень развития хвои. Положительное влияние отмечалось и при обработке семян препаратом Наноплант. Следует также отметить, что ель проявила большую восприимчивость к влиянию регуляторов роста.

Т а б л и ц а 1. Влияние предпосевной обработки на биометрические показатели сеянцев (4,5 мес.)

Table 1. The effect of presowing treatment on biometric indicators seedlings (4.5 months)

Вариант обработки	Длина главного корня		Высота надземной части		Охвоенность стволика	
	мм	%	мм	%	мм	%
<i>Сосна обыкновенная</i>						
Контроль	86,25 ± 7,74	100	54,17 ± 3,97	100	23,34 ± 2,11	100
Эпин Плюс (0,04 л/т)	87,50 ± 12,50	101	58,75 ± 1,25	108	23,45 ± 1,25	100
Экосил Плюс (0,1 л/т)	113,75 ± 5,55	132	61,67 ± 6,01	114	30,84 ± 2,01	132
Экосил Микс (0,1 л/т)	120,00 ± 20,00	139	60,84 ± 3,01	112	27,50 ± 2,50	118
Наноплант (0,6 л/т)	103,34 ± 8,82	120	57,50 ± 2,50	106	23,75 ± 3,15	102
<i>Ель обыкновенная</i>						
Контроль	80,00 ± 12,45	100	46,00 ± 2,45	100	12,50 ± 1,12	100
Эпин Плюс (0,04 л/т)	83,89 ± 3,89	105	52,23 ± 1,69	114	12,50 ± 1,12	100
Экосил Плюс (0,1 л/т)	94,00 ± 9,67	118	58,00 ± 4,07	126	17,00 ± 1,23	136
Экосил Микс (0,1 л/т)	124,59 ± 9,18	156	53,34 ± 1,55	116	15,42 ± 0,97	123
Наноплант (0,6 л/т)	102,00 ± 8,16	128	54,17 ± 3,01	118	15,00 ± 0,84	120

Для изучения в лабораторных условиях регулирующего действия исследуемых препаратов на семена сосны и ели при внекорневой обработке определяли ряд физиолого-биохимических показателей (качественное и количественное содержание фотосинтетических пигментов, уровень продуктов перекисного окисления липидов мембран (ТБК-продуктов), а также выход водорастворимых веществ из тканей растений).

Известно, что оценка адаптации зеленых растений к различным факторам окружающей среды включает прежде всего анализ параметров фотосинтеза, от которых зависят все прочие процессы метаболизма, так или иначе связанные с фотосинтетической функцией [12, 13]. Результаты изучения нами содержания фотосинтетических пигментов в семенах ели и сосны при применении внекорневых обработок рострегулирующими препаратами показали, что практически все регуляторы роста способствовали накоплению пигментов в хвое (табл. 2). Повышение содержания хлорофиллов (на 96 %) и каротиноидов (на 75 %) при применении препарата Экосил Микс в дозировке 1,0 л/га в наибольшей степени проявлялось у ели. Неплохие результаты получены также при использовании рострегулятора Экосил Плюс (1,5 л/га), который повышал содержание

хлорофиллов и каротиноидов у сеянцев ели на 68 и 49 % соответственно. Для сеянцев сосны лучшим препаратом, увеличивающим количество фотосинтетических пигментов в хвое, оказался Экосил Плюс в дозировке 1,5 л/га.

Уровень перекисного окисления липидов в тканях отображает характер структурных перестроек, происходящих в мембранах растений под воздействием стрессовых факторов, в частности возбудителей болезней. Накопление продуктов перекисного окисления в тканях растения свидетельствует о развивающемся патологическом процессе. Выход водорастворимых веществ из растительных тканей находится в прямой зависимости от целостности клеточных мембран. Увеличение выхода водорастворимых веществ свидетельствует либо об интенсификации обмена веществ (здоровые растения), либо о сильном повреждении тканей (инфицированные растения) [11, 14]. Согласно полученным результатам, применение различных форм Экосила путем опрыскивания сеянцев сосны индуцировало в растениях адаптационные физиолого-биохимические процессы, оказывая регулирующее действие на указанные выше показатели (табл. 2). Во всех вариантах под воздействием препаратов количество ТБК-продуктов в тканях растений было снижено по сравнению с контролем на 10–36 %, выход водорастворимых веществ также ингибировался на 5–43 %, что свидетельствует о стабилизирующем мембранотропном действии препаратов. Наибольший эффект получен при использовании регуляторов роста Наноплант (0,1 л/га) и Экосил Плюс (1,5 л/га).

Таблица 2. Влияние внекорневой обработки на биохимические показатели сеянцев

Table 2. The effect of foliar treatment on the biochemical parameters of seedlings

Вариант обработки	Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i>		Каротиноиды		ТБК-продукты		Водорастворимые вещества	
	мг/г сырой массы	%	мг/г сырой массы	%	мкМ/г сырой массы	%	мкМ/г сырой массы	%
<i>Сосна обыкновенная</i>								
Контроль	0,337 ± 0,003	100	0,177 ± 0,003	100	54,11 ± 0,14	100	9,333 ± 0,003	100
Эпин Плюс (3 мг/га)	0,419 ± 0,003	124	0,244 ± 0,003	138	43,52 ± 0,13	80	6,733 ± 0,003	72
Экосил Микс, л/га:								
0,5	0,420 ± 0,002	125	0,230 ± 0,004	130	46,25 ± 0,17	85	6,333 ± 0,006	68
1,0	0,439 ± 0,003	130	0,260 ± 0,003	147	45,40 ± 0,22	84	6,533 ± 0,003	70
1,5	0,440 ± 0,03	131	0,237 ± 0,005	134	44,32 ± 0,16	82	6,333 ± 0,003	68
Экосил Плюс, л/га:								
1,0	0,438 ± 0,002	130	0,234 ± 0,005	132	40,93 ± 0,15	76	5,333 ± 0,007	57
1,5	0,457 ± 0,003	136	0,243 ± 0,003	137	40,77 ± 0,07	75	5,067 ± 0,003	54
2,0	0,446 ± 0,004	132	0,241 ± 0,004	136	41,95 ± 0,10	78	5,733 ± 0,005	61
Наноплант, л/га:								
0,05	0,444 ± 0,006	132	0,246 ± 0,002	139	37,24 ± 0,13	69	6,067 ± 0,007	65
0,1	0,438 ± 0,003	130	0,252 ± 0,003	142	34,85 ± 0,12	64	5,733 ± 0,003	61
0,15	0,421 ± 0,004	125	0,237 ± 0,005	134	36,46 ± 0,15	67	5,933 ± 0,005	64
НСР <sub>005</sub>		1,5		1,8		1,6		1,4
<i>Ель обыкновенная</i>								
Контроль	0,382 ± 0,003	100	0,234 ± 0,003	100	32,17 ± 0,17	100	25,467 ± 0,003	100
Эпин Плюс (3 мг/га)	0,557 ± 0,003	146	0,323 ± 0,003	138	31,16 ± 0,15	97	13,133 ± 0,003	52
Экосил Микс, л/га:								
0,5	0,635 ± 0,006	166	0,372 ± 0,004	159	26,31 ± 0,09	82	13,067 ± 0,005	51
1,0	0,750 ± 0,003	196	0,409 ± 0,003	175	25,14 ± 0,17	78	12,867 ± 0,003	50
1,5	0,713 ± 0,004	187	0,398 ± 0,005	170	27,49 ± 0,13	85	13,933 ± 0,007	55
Экосил Плюс, л/га:								
1,0	0,637 ± 0,004	167	0,370 ± 0,004	158	28,06 ± 0,13	87	12,067 ± 0,005	47
1,5	0,643 ± 0,003	168	0,348 ± 0,003	149	27,29 ± 0,12	84	11,333 ± 0,003	45
2,0	0,620 ± 0,006	162	0,360 ± 0,005	154	27,93 ± 0,14	87	12,467 ± 0,005	49
Наноплант, л/га:								
0,05	0,467 ± 0,05	122	0,280 ± 0,003	120	26,87 ± 0,13	84	11,067 ± 0,007	43
0,1	0,447 ± 0,003	117	0,281 ± 0,003	120	25,78 ± 0,07	79	11,333 ± 0,003	44
0,15	0,492 ± 0,04	129	0,297 ± 0,005	127	27,00 ± 0,10	84	12,067 ± 0,005	47

На основании лабораторных опытов для полевых исследований были выбраны препараты Экосил Микс (1,0 л/га), Экосил Плюс (1,5 л/га) и Наноплант (0,1 л/га), которые продолжали испытывать в течение двух вегетационных сезонов на сеянцах и саженцах путем одиночного внесения, а также в составе композиционных смесей совместно с макро- и микроудобрениями. В первый год исследований выявлено, что все обработки положительно влияли на устойчивость сеянцев к фитопатогенным грибам (табл. 3). Несмотря на то что степень распространения болезней на посадочном материале изначально была невысокой (на двухлетних сеянцах хвойных пород не превышала 3 %, на однолетних – 2 %), применяемые препараты и композиционные составы еще больше ее снижали. При этом биологическая эффективность препаратов возрастала с увеличением кратности обработок.

Т а б л и ц а 3. Влияние обработок на распространение грибных болезней (первый год)

T a b l e 3. The effect of treatments on the spread of fungal diseases (first year)

Вариант обработки	Распространение болезней после внекорневой обработки, %			Видовой состав грибов, выявленных в тканях пораженного посадочного материала
	однократной	двукратной	трехкратной	
<i>Однолетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза</i>				
Контроль	1,40 ± 0,03	1,60 ± 0,02	1,84 ± 0,04	<i>Alternaria alternariata</i>
Эпин Плюс (3 мл/га)	1,11 ± 0,03	1,05 ± 0,03	0,80 ± 0,03	
Биологическая эффективность препарата, %	21	34	56	
Экосил Микс (1,0 л/га)	0,85 ± 0,04	0,87 ± 0,04	0,45 ± 0,04	<i>Aureobasidium pullulans</i>
Биологическая эффективность препарата, %	39	46	76	
Экосил Плюс (1,5 л/га)	0,75 ± 0,03	0,70 ± 0,03	0,45 ± 0,02	
Биологическая эффективность препарата, %	68	56	76	<i>Cladosporium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,65 ± 0,03	0,67 ± 0,06	0,37 ± 0,03	
Биологическая эффективность препарата, %	54	58	80	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,60 ± 0,02	0,65 ± 0,04	0,46 ± 0,05	<i>Fusarium sp.</i>
Биологическая эффективность препарата, %	57	59	75	
<i>Двухлетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза</i>				
Контроль	2,36 ± 0,13	2,52 ± 0,14	2,84 ± 0,14	<i>Alternaria alternariata</i>
Эпин Плюс (3 мл/га)	1,36 ± 0,07	1,45 ± 0,11	1,43 ± 0,11	
Биологическая эффективность препарата, %	42	42	50	
Экосил Микс (1,0 л/га)	0,94 ± 0,07	1,06 ± 0,08	0,94 ± 0,07	<i>Aureobasidium pullulans</i>
Биологическая эффективность препарата, %	60	58	67	
Экосил Плюс (1,5 л/га)	1,04 ± 0,06	0,90 ± 0,09	0,91 ± 0,08	
Биологическая эффективность препарата, %	56	64	68	<i>Cladosporium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,04 ± 0,10	1,04 ± 0,13	0,96 ± 0,12	
Биологическая эффективность препарата, %	59	59	66	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,32 ± 0,04	1,25 ± 0,14	1,19 ± 0,12	<i>Fusarium sp.</i>
Биологическая эффективность препарата, %	44	50	58	
<i>Однолетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза</i>				
Контроль	0,50 ± 0,03	0,80 ± 0,09	0,84 ± 0,04	<i>Cladosporium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,35 ± 0,03	0,33 ± 0,05	0,25 ± 0,07	
Биологическая эффективность препарата, %	30	59	70	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,23 ± 0,02	0,30 ± 0,05	0,30 ± 0,05	<i>Phoma sp.</i>
Биологическая эффективность препарата, %	54	63	64	

Окончание табл. 3

Вариант обработки	Распространение болезней после внекорневой обработки, %			Видовой состав грибов, выявленных в тканях пораженного посадочного материала
	однократной	двукратной	трехкратной	
<i>Двухлетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза</i>				
Контроль	2,25 ± 0,18	2,15 ± 0,05	2,84 ± 0,14	<i>Cladosporium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,03 ± 0,08	0,75 ± 0,05	0,63 ± 0,03	
Биологическая эффективность препарата, %	54	65	79	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,85 ± 0,09	0,63 ± 0,05	0,50 ± 0,02	<i>Fusarium sp.</i>
Биологическая эффективность препарата, %	62	71	82	
<i>Однолетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Кличевского лесхоза</i>				
Контроль	0,40 ± 0,03	1,29 ± 0,14	1,15 ± 0,10	<i>Aureobasidium pullulans</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,27 ± 0,09	1,00 ± 0,16	0,73 ± 0,05	
Биологическая эффективность препарата, %	33	22	37	<i>Cladosporium sp.</i>
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,30 ± 0,06	0,92 ± 0,09	0,63 ± 0,05	
Биологическая эффективность препарата, %	25	29	45	
<i>Двухлетние сеянцы ели, закрытый грунт, питомник Кличевского лесхоза</i>				
Контроль	0,90 ± 0,13	0,90 ± 0,15	0,95 ± 0,14	<i>Alternaria alternariata</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,45 ± 0,07	0,40 ± 0,05	0,28 ± 0,05	
Биологическая эффективность препарата, %	50	56	71	<i>Cladosporium sp.</i>
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	0,48 ± 0,08	0,23 ± 0,05	0,25 ± 0,07	
Биологическая эффективность препарата, %	47	74	74	

Результаты фитомониторинга посевов сосны и ели Молодечненского и Кличевского лесных питомников при внекорневой обработке во второй год исследований показали, что в течение вегетационного периода распространение фитопатогенных грибов также было небольшим (табл. 4). У двухлетних сеянцев сосны в контрольном варианте общее распространение болезней не превышало 1 %. В опытных образцах инфицированные растения отмечались единично уже после первой обработки при неизменном уровне распространения болезней в контроле. У двухлетних сеянцев ели наблюдалась более высокая степень распространения болезней – в контроле было инфицировано до 2 % растений, а после обработки регуляторами роста и композиционными составами распространение болезней снижалось в 1,2–1,8 раза. После повторной обработки составом степень распространения болезней на сеянцах ели тенденция к снижению усиливалась.

Таблица 4. Влияние обработок на распространение грибных болезней (второй год)

Table 4. The effect of treatments on the spread of fungal diseases (second year)

Вариант обработки	Распространение болезней после внекорневой обработки, %			Видовой состав грибов, выявленных в тканях пораженного посадочного материала
	однократной	двукратной	трехкратной	
<i>Двухлетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза</i>				
Контроль	0,70 ± 0,03	0,81 ± 0,02	0,92 ± 0,03	<i>Alternaria alternariata</i>
Экосил Микс (1,0 л/га)	0,15 ± 0,01	Единично	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	79	≈100	≈100	
Экосил Плюс (1,5 л/га)	0,15 ± 0,01	Единично	Единично	<i>Aureobasidium pullulans</i>
Биологическая эффективность препарата, %	79	≈100	≈100	
Наноплант (0,1 л/га)	Единично	Единично	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	≈100	≈100	≈100	<i>Fusarium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	Единично	Единично	Единично	

Окончание табл. 4

Вариант обработки	Распространение болезней после внекорневой обработки, %			Видовой состав грибов, выявленных в тканях пораженного посадочного материала
	однократной	двукратной	трехкратной	
Биологическая эффективность препарата, %	≈100	≈100	≈100	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	Единично	Единично	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	≈100	≈100	≈100	
<i>Двухлетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза</i>				
Контроль	1,90 ± 0,13	1,72 ± 0,09	2,00 ± 0,10	<i>Aureobasidium pullulans</i>  <i>Cladosporium sp.</i>  <i>Fusarium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га)	1,48 ± 0,05	Единично	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	18	≈100	≈100	
Экосил Плюс (1,5 л/га)	1,60 ± 0,07	0,58 ± 0,04	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	11	66	≈100	
Наноплант (0,1 л/га)	1,40 ± 0,03	0,38 ± 0,03	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	22	79	≈100	
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,07 ± 0,08	0,20 ± 0,01	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	41	88	≈100	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,10 ± 0,05	0,31 ± 0,01	Единично	
Биологическая эффективность препарата, %	39 %	82 %	≈100 %	
<i>Двухлетние саженцы ели, открытый грунт, питомник Кличевского лесхоза</i>				
Контроль	3,00 ± 0,09	2,52 ± 0,04	3,33 ± 0,06	<i>Cladosporium sp.</i>  <i>Fusarium sp.</i>  <i>Phoma sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га)	1,75 ± 0,07	1,45 ± 0,05	0,55 ± 0,05	
Биологическая эффективность препарата, %	42	42	83	
Экосил Плюс (1,5 л/га)	2,00 ± 0,07	1,36 ± 0,03	0,45 ± 0,03	
Биологическая эффективность препарата, %	33	40	86	
Наноплант (0,1 л/га)	2,00 ± 0,06	1,50 ± 0,03	0,63 ± 0,03	
Биологическая эффективность препарата, %	33	40	81	
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,75 ± 0,5	1,04 ± 0,03	0,44 ± 0,03	
Биологическая эффективность препарата, %	42	59	87	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	1,50 ± 0,04	1,15 ± 0,04	0,45 ± 0,04	
Биологическая эффективность препарата, %	50	54	86	
<i>Однолетние сеянцы сосны, закрытый грунт, питомник Кличевского лесхоза</i>				
Контроль	0,65 ± 0,02	0,60 ± 0,03	–	<i>Cladosporium sp.</i>  <i>Fusarium sp.</i>
Экосил Микс (1,0 л/га)	0,25 ± 0,01	Единично	–	
Биологическая эффективность препарата, %	61	≈100	–	
Экосил Плюс (1,5 л/га)	0,25 ± 0,01	Единично	–	
Биологическая эффективность препарата, %	61	≈100	–	
Наноплант (0,1 л/га)	0,15 ± 0,01	Единично	–	
Биологическая эффективность препарата, %	77	≈100	–	
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	Единично	Единично	–	
Биологическая эффективность препарата, %	≈100	≈100	–	
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	Единично	Единично	–	
Биологическая эффективность препарата, %	≈100	≈100	–	

На двухлетних саженцах ели, выращенных в открытом грунте, распространение болезней, вызванных грибными фитопатогенами, составило от 2,52 до 3,33 % в течение вегетационного периода. Обработки изучаемыми препаратами и смесями способствовали снижению общего распространения болезней. После первой обработки распространение болезней в опытных образцах было в пределах 1,5–2 %; после повторной – 1,0–1,5; после третьей – не более 0,63 %.

Однолетние сеянцы сосны, выращиваемые в закрытом грунте, были почти не подвержены грибной инфекции – в контрольном варианте распространение болезней составляло 0,6–0,65 %. В опытных образцах количество инфицированных растений снизилось более чем в 2 раза, а при повторной обработке инфицированные сеянцы встречались единично.

Также был осуществлен анализ ряда физиолого-биохимических показателей болезнестойчивости посадочного материала сосны и ели, подвергнутого обработкам. Результаты исследований сеянцев первого вегетационного периода показали снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов и уровня выхода водорастворимых веществ из растительных тканей двухлетних сеянцев хвойных пород в открытом грунте под влиянием проводимых обработок (табл. 5). Так, количество ТБК-продуктов в сеянцах сосны и ели уменьшилось на 10–45 %, а выход водорастворимых веществ снизился еще значительно (на 15–55 %). При этом сеянцы ели, выращенные в закрытом грунте, проявляли большую чувствительность к обработкам композиционными составами. Однолетние сеянцы хвойных пород также положительно реагировали на композиционные смеси, однако снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов в клетках и выхода водорастворимых веществ из растительных тканей у них было менее выраженным, чем у двухлетних сеянцев.

Таблица 5. Влияние обработок на биохимические показатели сеянцев (первый год)

Table 5. The effect of treatments on the biochemical parameters of seedlings (first year)

Вариант обработки	ТБК-продукты, %	Водорастворимые вещества, %	Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i> , %	Каротиноиды, %
<i>Однолетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Эпин Плюс (3 мл/га)	60	80	108	103
Экосил Микс (1,0 л/га)	59	76	112	117
Экосил Плюс (1,5 л/га)	58	78	139	140
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	64	75	127	124
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	61	86	126	127
<i>Двухлетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Эпин Плюс (3 мл/га)	88	64	126	121
Экосил Микс (1,0 л/га)	77	52	125	126
Экосил Плюс (1,5 л/га)	89	55	126	124
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	88	60	122	124
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	79	52	129	129
<i>Однолетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	78	64	133	131
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	73	69	140	138
<i>Двухлетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	73	71	171	166
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	87	83	186	180

Окончание табл. 5

Вариант обработки	ТБК-продукты, %	Водорастворимые вещества, %	Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i> , %	Каротиноиды, %
<i>Однолетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	70	70	153	144
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	73	58	148	148
<i>Двухлетние сеянцы ели, закрытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	70	62	239	218
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	54	51	313	280

При анализе содержания фотосинтетических пигментов в хвое одно- и двухлетних сеянцев сосны и ели, выращенных в открытом грунте, обнаружено некоторое увеличение количества хлорофиллов и каротиноидов относительно контрольного уровня (табл. 5). Однако наиболее значимое положительное влияние композиционные составы на основе регуляторов роста и удобрений оказывали на содержание фотосинтетических пигментов двухлетних сеянцев ели в закрытом грунте (после трехкратной обработки их уровень увеличился в 2,3–3 раза по отношению к контролю).

Данные, полученные во второй год исследований, подтвердили результаты предыдущего вегетационного сезона. В ходе экспериментальной работы обнаружено стимулирующее действие изученных препаратов на стабильность клеточных мембран сеянцев хвойных пород и снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов относительно контрольных значений (табл. 6).

Сходные результаты во второй год исследований получены и при анализе параметров фотосинтеза. Так, трехкратные обработки регулятором роста Экосил Плюс, микроудобрением Наноплант и их смесью способствовали повышению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) на 10–20 % в хвое двухлетних сеянцев сосны (открытый грунт), а Экосил Микс и композиционный состав на его основе вызывали увеличение количества хлорофиллов и каротиноидов на 10–50 %. У однолетних сеянцев сосны в закрытом грунте обработки также способствовали увеличению количества фотосинтетических пигментов (на 23–49 %). Содержание фотосинтетических пигментов в хвое двухлетних саженцев ели в открытом грунте после трехкратной обработки повышалось на 15–50 %, а наиболее эффективным из исследуемых препаратов оказался Экосил Микс (табл. 6).

Т а б л и ц а 6. Влияние обработок на биохимические показатели сеянцев и саженцев (второй год)

T a b l e 6. The effect of treatments on the biochemical parameters of seedlings (second year)

Вариант обработки	ТБК-продукты, %	Водорастворимые вещества, %	Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i> , %	Каротиноиды, %
<i>Двухлетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	89	59	113	112
Экосил Плюс (1,5 л/га)	86	56	122	119
Наноплант (0,1 л/га)	94	54	115	115
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	77	51	150	149
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	73	52	113	111

Окончание табл. 6

Вариант обработки	ТБК-продукты, %	Водорастворимые вещества, %	Хлорофиллы <i>a</i> и <i>b</i> , %	Каротиноиды, %
<i>Двухлетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	82	64	122	110
Экосил Плюс (1,5 л/га)	86	57	126	126
Наноплант (0,1 л/га)	85	81	104	103
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	82	40	163	163
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	76	36	146	148
<i>Двухлетние саженцы ели, открытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	66	82	114	111
Экосил Плюс (1,5 л/га)	69	70	108	111
Наноплант (0,1 л/га)	61	67	105	104
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	46	75	134	136
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	54	60	117	115
<i>Однолетние сеянцы сосны, закрытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (двукратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	91	65	149	148
Экосил Плюс (1,5 л/га)	91	65	131	128
Наноплант (0,1 л/га)	82	47	131	123
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	66	63	140	140
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	72	60	130	132

В ходе исследования было изучено также влияние регуляторов роста и композиционных составов на их основе в сочетании с микро- (Наноплант) и макроудобрениями (Карбамид) на биометрические показатели посадочного материала сосны и ели, выращенного в открытом и закрытом грунте. Результаты исследования действия обработок на однолетние сеянцы сосны и ели в открытом грунте питомника Молодечненского лесхоза в первый год показали, что высота опытных растений отличалась от контрольных образцов на 10–25 % при использовании регуляторов роста индивидуально и в композиционной смеси (табл. 7). Также отмечено положительное влияние обработок на толщину стволика, охвоенность и длину главного корня сеянцев сосны и ели. Аналогичные результаты получены в первый год при обработках однолетних сеянцев сосны, выращенных в условиях открытого грунта в питомнике Кличевского лесхоза. Однако обработки композиционными смесями, содержащими регуляторы роста Экосил Плюс, в данном случае показали большую эффективность. В отличие от состава на основе препарата Экосил Микс, они сильнее стимулировали рост сеянцев сосны в высоту (почти на 40 % по отношению к контролю) и еще значительно – на степень охвоенности стволика (до 78 %). Также Экосил Плюс в сочетании с макро- и микроудобрениями способствовал более сильному росту главного корня (39 % по отношению к контролю), чем препарат Экосил Микс (9 %).

Двухлетние сеянцы хвойных пород, выращенные в открытом грунте питомника Молодечненского лесхоза в первый год, положительно реагировали на обработки регуляторами роста и микроудобрениями. При применении всех вариантов выявлено увеличение высоты надземной части растений по сравнению с контрольными образцами (в основном за счет степени охвоенности стволика). Большую эффективность проявлял Экосил Микс, повышая рост сеянцев сосны после трехкратной обработки в среднем в 1,5 раза. Из композиционных составов эффективнее

была смесь на основе регулятора роста Экосил Плюс, при использовании которого длина надземной части у сеянцев ели увеличивалась на 25 %, а у сеянцев сосны – на 40 и 60 %. На толщину стебля у корневой шейки ни один состав не оказывал существенного влияния на всем протяжении исследований.

Т а б л и ц а 7. Влияние обработок на биометрические показатели сеянцев (первый год)

T a b l e 7. The effect of treatments on biometric indicators of seedlings (first year)

Вариант обработки	Высота надземной части, %	Охвоенность стволика, %	Толщина корневой шейки, %	Длина главного корня, %
<i>Однолетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Эпин Плюс (3 мл/га)	115	126	113	109
Экосил Микс (1,0 л/га)	108	116	119	107
Экосил Плюс (1,5 л/га)	125	143	108	108
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	113	122	129	115
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	112	122	128	117
<i>Двухлетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Эпин Плюс (3 мл/га)	149	163	108	110
Экосил Микс (1,0 л/га)	154	124	95	105
Экосил Плюс (1,5 л/га)	138	149	107	106
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	132	134	100	116
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	161	145	107	119
<i>Однолетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	126	138	115	111
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	126	141	115	120
<i>Двухлетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	111	129	108	113
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	125	131	105	118
<i>Однолетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	126	146	124	135
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	137	173	128	157
<i>Двухлетние сеянцы ели, закрытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	137	136	118	118
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	128	137	119	120

При использовании композиционных составов на двухлетних сеянцах ели в лесном питомнике Кличевского лесхоза в условиях закрытого грунта несколько перспективнее оказалась смесь с использованием препарата Экосил Микс. В этом варианте обработки высота стволика и его охвоенность в среднем возрастали на 35 и 40 % соответственно, тогда как в образцах, обработанных смесями на основе регулятора роста Экосил Плюс, эти показатели увеличивались на 25 %.

Результаты исследований второго года также выявили стимулирующее действие используемых для обработок препаратов и композиционных смесей на рост двухлетних сеянцев хвойных пород в открытом грунте (табл. 8). Все изучаемые регуляторы роста и составы на их основе вызвали стабильное увеличение высоты сеянцев сосны на 7–24 %, ели – на 8–34 %. При этом более существенное влияние оказывал регулятор роста Экосил Плюс при самостоятельном применении и в сочетании с макро- и микроудобрениями. Проводимые обработки стимулировали также охвоенность стволика. У двухлетних сеянцев сосны и ели, выращиваемых в открытом грунте, этот показатель практически коррелировал с увеличением высоты растений. На толщину стволика у корневой шейки проводимые обработки также в большинстве случаев влияли положительно. У двухлетних сеянцев сосны под влиянием исследуемых препаратов наблюдалось увеличение толщины стволика до 30 % по сравнению с контрольным значением. У двухлетних сеянцев ели толщина стволика достоверно увеличивалась только при использовании композиционного состава на основе регулятора роста Экосил Плюс, макро- и микроудобрений. Обработка изучаемыми препаратами и их композиционными составами также вызвала удлинение главного корня двухлетних сеянцев в открытом грунте от 1 до 15 %.

Таблица 8. Влияние обработок на биометрические показатели сеянцев и саженцев (второй год)  
Table 8. The effect of treatments on biometric indicators seedlings (second year)

Вариант обработки	Высота надземной части, %	Охвоенность стволика, %	Толщина корневой шейки, %	Длина главного корня, %
<i>Двухлетние сеянцы сосны, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	109	111	118	111
Экосил Плюс (1,5 л/га)	120	123	121	105
Наноплант (0,1 л/га)	112	110	103	103
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	111	115	119	110
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	122	128	124	114
<i>Двухлетние сеянцы ели, открытый грунт, питомник Молодечненского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	115	118	100	110
Экосил Плюс (1,5 л/га)	122	121	106	108
Наноплант (0,1 л/га)	112	113	99	102
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	117	127	105	115
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	134	138	116	112
<i>Двухлетние саженцы ели, открытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (трехкратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	116	126	119	105
Экосил Плюс (1,5 л/га)	117	131	113	109
Наноплант (0,1 л/га)	112	124	118	106
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	119	127	127	111
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	125	134	122	111

Окончание табл. 8

Вариант обработки	Высота надземной части, %	Охвоенность стволика, %	Толщина корневой шейки, %	Длина главного корня, %
<i>Однолетние сеянцы сосны, закрытый грунт, питомник Кличевского лесхоза (двукратная обработка)</i>				
Контроль	100	100	100	100
Экосил Микс (1,0 л/га)	142	252	131	110
Экосил Плюс (1,5 л/га)	139	260	138	107
Наноплант (0,1 л/га)	140	233	129	114
Экосил Микс (1,0 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	142	267	142	113
Экосил Плюс (1,5 л/га) + Карбамид (30 кг/га) + Наноплант (0,1 л/га)	145	287	139	110

Кроме того, на двухлетних саженцах ели, выращиваемых в открытом грунте, отмечалось увеличение прироста надземной и подземной части растений относительно контроля под воздействием обработок. Рострегулирующие препараты вызывали усиление роста саженцев в высоту на 16–26 %, а добавление к ним удобрений усиливало стимулирующий эффект препаратов. Охвоенность саженцев ели возрастала под влиянием используемых препаратов на 24–47 %. Установлено, что регуляторы роста Экосил Микс и Экосил Плюс способствовали утолщению стволика двухлетних саженцев ели до 13 %. В то же время смеси этих рострегулирующих препаратов с микро- и макроудобрениями стимулировали увеличение толщины стволика на 22–28 %.

Обработки существенно влияли на развитие однолетних сеянцев сосны в закрытом грунте. Все препараты вызывали увеличение высоты сеянцев на 39–45 % при двукратной обработке. Также у однолетних сеянцев сосны (закрытый грунт) рострегулирующие препараты и композиционные смеси вызывали повышение степени охвоенности стволика в 2,3–2,9 раза после двукратной обработки. Наибольший стимулирующий эффект наблюдался при использовании регулятора роста Экосил Плюс в составе композиционной смеси и самостоятельно.

**Заключение.** По итогам анализа результатов лабораторных исследований выявлено, что для внекорневой обработки одно- и двухлетних сеянцев и саженцев хвойных пород (путем опрыскивания по вегетирующей массе) в полевых условиях предпочтительно использовать препараты Экосил Микс (1,0 л/га), Экосил Плюс (1,5 л/га) и Наноплант (0,1 л/га).

Проведенные обработки оказывали положительное действие на биометрические показатели посадочного материала сосны и ели, способствуя более активному росту надземной части. Причем данное увеличение происходило, как правило, за счет усиления степени охвоенности стволика. Регуляторы роста и в особенности композиционные смеси на их основе также стимулировали рост подземной части обработанных сеянцев и саженцев, что выражалось в удлинении главного корня до 40 % в сравнении с контрольными вариантами.

Исследованные препараты способствовали также стабилизации клеточных мембран растений и накоплению фотосинтетических пигментов. Для всех экспериментальных образцов было характерно снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов мембран. С уровнем перекисного окисления липидов мембран коррелировала степень выхода водорастворимых веществ из тканей растений. Все значения данного показателя при обработке посадочного материала также были ниже контрольного уровня. Стабилизация клеточных мембран и активация процессов фотосинтеза под влиянием рострегулирующих препаратов, очевидно, способствовала повышению болезнеустойчивости посадочного материала, что выражалось в снижении степени распространения грибных фитопатогенов в посевах. Несмотря на то что изначально уровень поражения болезнями сеянцев и саженцев был невысоким (у ели 2–3 %, у сосны не более 1–2 %), проведенные обработки способствовали еще большему снижению количества инфицированных растений, что доказывает эффективность применения исследованных препаратов для повышения болезнеустойчивости, а следовательно, и для улучшения качества посадочного материала хвойных пород.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Государственная программа «Белорусский лес» на 2016–2020 годы : утв. постановлением Совета Министров Респ. Беларусь 18.03.2016 г., № 215 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://178.124.138.77/docs/official/Bel\\_les/Belorysskii\\_les\\_2016-2020.pdf](http://178.124.138.77/docs/official/Bel_les/Belorysskii_les_2016-2020.pdf). – Дата доступа: 02.09.2020.
2. Волкович, А. П. Интенсивные технологии выращивания посадочного материала и лесовосстановления / А. П. Волкович, В. В. Носников. – Минск : БГТУ, 2015. – 75 с.
3. Малашевич, Д. Г. Лесное хозяйство республики Беларусь: современное состояние и стратегические направления / Д. Г. Малашевич, Е. А. Дашкевич // Акт. проблемы лесн. комплекса. – 2016. – № 46. – С. 31–35.
4. Отраслевая программа по выращиванию посадочного материала с закрытой корневой системой в организациях министерства лесного хозяйства Республики Беларусь на период до 2020 года // Лесн. и охот. хозяйство. – 2014. – № 7. – С. 18–30.
5. Бабков, А. В. Влияние стимуляторов роста на биометрические показатели саженцев ели европейской в лесном питомнике / А. В. Бабков, М. И. Завадская, Г. П. Фандо // Фитогормоны, гуминовые вещества и другие биорациональные пестициды в сельском хозяйстве : сб. материалов 7-й Междунар. конф. молодых ученых, 02–04 нояб. 2011 г. / Ин-т биоорганической химии НАН Беларуси. – Минск, 2011 – С. 23–25.
6. География Беларуси [Электронный ресурс] // Википедия. – Режим доступа: [https://ru.wikipedia.org/wiki/География\\_Белоруссии](https://ru.wikipedia.org/wiki/География_Белоруссии). – Дата доступа: 17.06.2019.
7. Экосил [Электронный ресурс] / Торгово-производств. част. унит. предприятие «БелУниверсалПродукт». – Режим доступа: <https://ecosil.by>. – Дата доступа: 13.06.2019.
8. Наноплант [Электронный ресурс] / Научно-техническое общество «АКТЕХ». – Режим доступа: <http://nanoplant.by>. – Дата доступа: 14.06.2019.
9. Семена деревьев и кустарников. Метод определения всхожести : ГОСТ 13056.6-97. – М. : Изд-во стандартов, 1998. – 27 с.
10. Сеянцы деревьев и кустарников. Технические условия : ГОСТ 3317-90. – М. : Изд-во стандартов, 1991. – 47 с.
11. Починок, Х. Н. Методы биохимического анализа растений / Х. Н. Починок. – Киев : Наук. думка, 1976. – 334 с.
12. Шалыго, Н. В. Биосинтез хлорофилла и фотодинамические процессы в растениях / Н. В. Шалыго. – Минск : Право и экономика, 2004. – 155 с.
13. Титова, М. С. Содержание пигментов как показатель адаптации фотосинтетического аппарата интродуцированных видов рода *Pinus* / М. С. Титова // Естеств. и техн. науки. – 2012. – № 6. – С. 103–104.
14. Мерзляк, М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительных клеток / М. Н. Мерзляк // Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. физиология растений. – 1989. – Т. 6. – С. 1–168.

### References

1. State Program “Belarusian Forest” for 2016–2020. Available at: [http://178.124.138.77/docs/official/Bel\\_les/Belorysskii\\_les\\_2016-2020.pdf](http://178.124.138.77/docs/official/Bel_les/Belorysskii_les_2016-2020.pdf) (accessed 02.09.2020) (in Russian).
2. Volkovich A. P., Nosnikov V. V. *Intensive technologies for planting and reforestation*. Minsk, Belarusian State Technological University, 2015. 75 p. (in Russian).
3. Malashevich D. G., Dashkevich E. A. Forestry of the Republic of Belarus: current state and strategic directions. *Aktual'nye problemy lesnogo kompleksa* [Actual problems of the forest complex], 2016, no. 46, pp. 31–35 (in Russian).
4. Sectoral program on the cultivation of planting material with a closed root system in the organizations of the Ministry of Forestry of the Republic of Belarus for the period up to 2020. *Lesnoe i okhotnich'e khozyaistvo* [Forestry and hunting], 2014, no. 7, pp. 18–30 (in Russian).
5. Babkov A. V., Zavadskaya M. I., Fando G. P. Influence of growth stimulants on the biometric indicators of European spruce seedlings in a forest nursery. *Fitogormony, guminovye veshchestva i drugie bioratsional'nye pestitsidy v sel'skom khozyaistve: sbornik materialov 7-i Mezhdunarodnoi konferentsii molodykh uchennykh (02–04 noyabrya 2011 goda, Minsk)* [Phytohormones, humic substances and other bio-rational pesticides in agriculture: collection of materials the 7th International conference of young scientists (02–04 November 2011, Minsk)]. Minsk, 2011, pp. 23–25 (in Russian).
6. *Geography of Belarus*. Available at: [https://ru.wikipedia.org/wiki/География\\_Белоруссии](https://ru.wikipedia.org/wiki/География_Белоруссии) (accessed 17.06.2019) (in Russian).
7. *Ekosil*. Available at: <https://ecosil.by> (accessed 13.06.2019) (in Russian).
8. *Nanoplant*. Available at: <http://nanoplant.by> (accessed 14.06.2019) (in Russian).
9. State Standard 13056.6-97. *Seeds of trees and shrubs. Germination method*. Moscow, Publishing house of standards, 1998. 27 p. (in Russian).
10. State Standard 3317-90. *Seedlings of trees and shrubs. Technical conditions*. Moscow, Publishing house of standards, 1991. 47 p. (in Russian).
11. Pochinok, Kh. N. *Methods of biochemical analysis of plants*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1976. 334 p. (in Russian).
12. Shalygo N. V. *Chlorophyll biosynthesis and photodynamic processes in plants*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2004. 155 p. (in Russian).
13. Titova M. S. Content of the pigments as an indicator of adaptation of the photosynthetic apparatus of introduced species of the *Pinus*. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki* [Natural and technical sciences], 2012, no. 6, pp. 103–104 (in Russian).
14. Merzlyak M. N. Activated oxygen and oxidative processes in the membranes of plant cells. *Itoги nauki i tekhniki VINITI. Seriya fiziologiya rastenii* [Results of science and technology VINITI. Plant physiology series], 1989, vol. 6, pp. 1–168 (in Russian).

### Информация об авторах

*Шуканов Владимир Петрович* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru

*Машкин Иван Анатольевич* – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru

*Корытько Лариса Александровна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru

*Мельникова Елена Владимировна* – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru

*Полянская Светлана Николаевна* – ст. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patphysio@mail.ru

### Information about the authors

*Vladimir P. Shukanov* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patphysio@mail.ru

*Ivan A. Mashkin* – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patphysio@mail.ru

*Larisa A. Korytsko* – 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: patphysio@mail.ru

*Elena V. Melnikova* – 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: patphysio@mail.ru

*Svetlana N. Polyanskaya* – 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: patphysio@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 611.814.1.018.82:612.65]-092.9

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-489-496>

Поступила в редакцию 09.06.2020

Received 09.06.2020

**А. В. Заерко, Е. М. Федина, С. М. Зиматкин**

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь*

## **ДИНАМИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ ГИПОТАЛАМУСА КРЫСЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

**Аннотация.** Гистаминергическая система мозга играет важную роль в регуляции многих функций, систем и реакций организма, а также в патогенезе многих патологических состояний и заболеваний. В литературе подробно описаны гистаминергические нейроны гипоталамуса у взрослых животных в норме и при некоторых патологических состояниях. Вместе с тем изучение развития этих нейронов в динамике постнатального онтогенеза не проводилось.

В работе оценено морфофункциональное состояние гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса в динамике постнатального онтогенеза. Исследование выполнено на потомстве беспородных белых крыс (45 животных). Декапитация крысят осуществлялась на 5, 10, 20, 45 и 90-е сутки после рождения. В работе использовали гистологический, гистохимический, морфометрический и статистический методы исследования. Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики.

Установлено, что с 5-х по 90-е сутки постнатального онтогенеза крыс происходит значительное увеличение размеров перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса (особенно с 5-х по 10-е сутки). Это сопровождается уменьшением плотности расположения тел исследуемых клеток и увеличением расстояния между ними (особенно с 5-х по 20-е сутки), что свидетельствует об интенсивном росте нейропила. В указанные сроки постнатального развития наблюдается значительное снижение количества гиперхромных нейронов, что совпадает с уменьшением содержания рибонуклеопротеинов в цитоплазме описываемых нейроцитов.

Таким образом, описанный выше этап постнатального развития гистаминергических нейронов мозга крысы в целом характеризуется интенсивным ростом их перикарионов, уменьшением плотности их расположения и стабилизацией морфофункционального состояния исследуемых нейроцитов.

**Ключевые слова:** гистаминергические нейроны, гипоталамус, постнатальное развитие, морфометрия, хроматофилия

**Для цитирования:** Заерко, А. В. Динамика гистологических изменений гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы в постнатальном онтогенезе / А. В. Заерко, Е. М. Федина, С. М. Зиматкин // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 489–496. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-489-496>

**Anastasiya V. Zaerko, Katsiaryna M. Phedina, Sergey M. Zimatkin**

*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

## **DYNAMICS OF HISTOLOGICAL CHANGES IN HISTAMINERGIC NEURONS OF THE RAT HYPOTHALAMUS IN POSTNATAL ONTOGENESIS**

**Abstract.** Histaminergic neurons in adult vertebrate brain are confined to the posterior hypothalamic area, where they are comprised of scattered groups of neurons referred to as the tuberomammillary nucleus. Histamine regulates hormonal functions, sleep, food intake, thermoregulation and locomotor activity. Histaminergic neurons in adult animals under normal conditions and in some pathological conditions are described. However, a study of these neurons development in the postnatal ontogenesis dynamics has not been conducted.

The morphofunctional state of histaminergic neurons of the hypothalamic E2 nucleus in the postnatal ontogenesis dynamics was assessed. The study was performed on the offspring of outbred white rats (45 animals). The decapitation of animals was carried out on the 5, 10, 20, 45 and 90th days after birth. We used histological, histochemical, morphometric and statistical research methods. The data obtained were processed by nonparametric statistics methods.

From the 5th to the 90th day of rat postnatal ontogenesis, there is a significant increase in the size of the histaminergic neurons pericarions of the hypothalamic E2 nucleus (especially from the 5th to the 10th day). It is accompanied by a decrease in the bodies location density of the studied cells and an increase in the distance between them (especially from the 5th to the 20th day), which indicates a neuropil intensive growth. Over the indicated period of postnatal development, a significant decrease in the hyperchromic neurons number is observed, which correspond to a decrease in the ribonucleoproteins amount in the cytoplasm of the described neurocytes.

Development of brain histaminergic neurons from the 5th to the 90th day of rat postnatal ontogenesis is characterized by an intensive growth of their pericaryons, a decrease in their location density and stabilization of the morphofunctional state of the studied neurocytes.

**Keywords:** histaminergic neurons, hypothalamus, postnatal development, morphometric analysis, chromatophilia

**For citation:** Zaerko A. V., Phedina K. M., Zimatkin S. M. Dynamics of histological changes in histaminergic neurons of the rat hypothalamus in postnatal ontogenesis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 489–496 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-489-496>

**Введение.** В последние десятилетия гистаминергическая нейромедиаторная система вызывает большой интерес ученых. Многочисленные экспериментальные и клинические данные демонстрируют ее важную роль в регуляции нейроэндокринной и сердечно-сосудистой систем, процессов сна и бодрствования, температурного гомеостаза, пищевого и питьевого поведения, памяти и обучения, болевого восприятия, полового поведения, в патогенезе многих заболеваний. У взрослых млекопитающих и человека тела гистаминергических нейронов головного мозга расположены исключительно в гипоталамусе, преимущественно в его туберомамиллярных ядрах (E1–E5). При этом ядро E2 является самым крупным и содержит больше половины всех гистаминергических нейронов гипоталамуса [1].

В литературе описаны пространственно-временное структурирование гистаминергической системы в период эмбриогенеза [2, 3], локализация, пространственная организация, строение, особенности метаболизма и функции гистаминергических нейронов гипоталамуса у взрослых животных в норме и при некоторых патологических состояниях [4, 5]. Вместе с тем изучение развития этих нейронов в динамике постнатального онтогенеза не проводилось.

Цель исследования – оценка морфофункционального состояния гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса в динамике постнатального онтогенеза.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на потомстве беспородных белых крыс (всего 45 крысят) в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей [6]. На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 30.01.2018). Животные находились на стандартном рационе вивария. Декапитацию крысят осуществляли на 5, 10, 20, 45 и 90-е сутки после рождения (для лучшей оценки динамики развития брали из каждого помета по одному крысенку на каждый срок), быстро извлекали головной мозг, вырезали гипоталамус.

Для гистологического исследования кусочки гипоталамуса сразу после забора замораживали в парах жидкого азота. В криостате Leica CM 1850 (Leica Microsystems GmbH, Германия) готовили серийные фронтальные срезы заднего отдела гипоталамуса толщиной 12 мкм, которые окрашивали по методу Ниссля (0,1 %-ным водным раствором тионина) для оценки размеров и формы гистаминергических нейронов, а также их анализа по степени хромотофилии цитоплазмы. При идентификации ядра E2 гистаминергической нейронной системы мозга крысы использовали соответствующие топографические атласы и схемы [7, 8].

С целью выявления содержания рибонуклеопротеинов (РНП) кусочки гипоталамуса сразу после забора фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [9] с последующей стандартной гистологической обработкой в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. С помощью микротомы Leica RM 2125 (Leica Microsystems GmbH, Германия) изготавливали парафиновые срезы заднего отдела гипоталамуса толщиной 5 мкм и окрашивали их галлоцианин-хромовыми квасцами по методу Эйнарсона [10].

Размеры и форму гистаминергических нейронов оценивали, обводя курсором контуры их перикарионов на экране монитора, и получали следующие параметры: минимальный и максимальный диаметры, периметр, площадь, объем нейронов, форм-фактор и фактор элонгации. Также определяли расстояние между телами гистаминергических нейронов и количество тел нейронов на единицу площади гистаминергического ядра E2.

Для анализа гистаминергических нейронов по степени хромотофилии цитоплазмы подсчитывали процент нормохромных (умеренная интенсивность окраски цитоплазмы), гиперхромных (интенсивная окраска цитоплазмы), гипохромных (слабая окраска цитоплазмы) нейронов и клеток-теней (очень слабое окрашивание цитоплазмы и ядер) [11].

Цитофотометрическое исследование гистологических препаратов, окрашенных с целью выявления РНП, проводили, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме гистаминергических нейронов на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций. Относительное содержание вещества выражали в единицах оптической плотности.

Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Количественные результаты представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – нижняя граница верхнего квартиля. Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann–Whitney *U*-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ( $p < 0,05$ ) [12].

**Результаты исследования.** С 5-х по 90-е сутки после рождения у крыс в ядре E2 гипоталамуса значительно увеличивались размеры гистаминергических нейронов. Так, за указанный промежуток времени минимальный и максимальный диаметры, а также периметр перикарионов гистаминергических нейронов увеличились в 1,9, 2 и 1,9 раза соответственно, особенно интенсивно (в 1,5 раза) – с 5-х по 10-е сутки (рис. 1, A–C). Площадь и объем возросли в 3,5 и 6,3 раза соответственно, причем наиболее значительно (в 2 и 2,9 раза) – на начальных этапах постнатального развития, т. е. с 5-х по 10-е сутки (рис. 1, D).

В ранний период постнатального онтогенеза крыс (5-е сутки) у гистаминергических нейронов преобладает округлая форма их перикарионов. На 10-е и 20-е сутки после рождения существенных изменений их формы не наблюдается. К 45-м суткам клетки становятся менее сферическими, что подтверждается уменьшением форм-фактора (рис. 1, E), при этом фактор элонгации

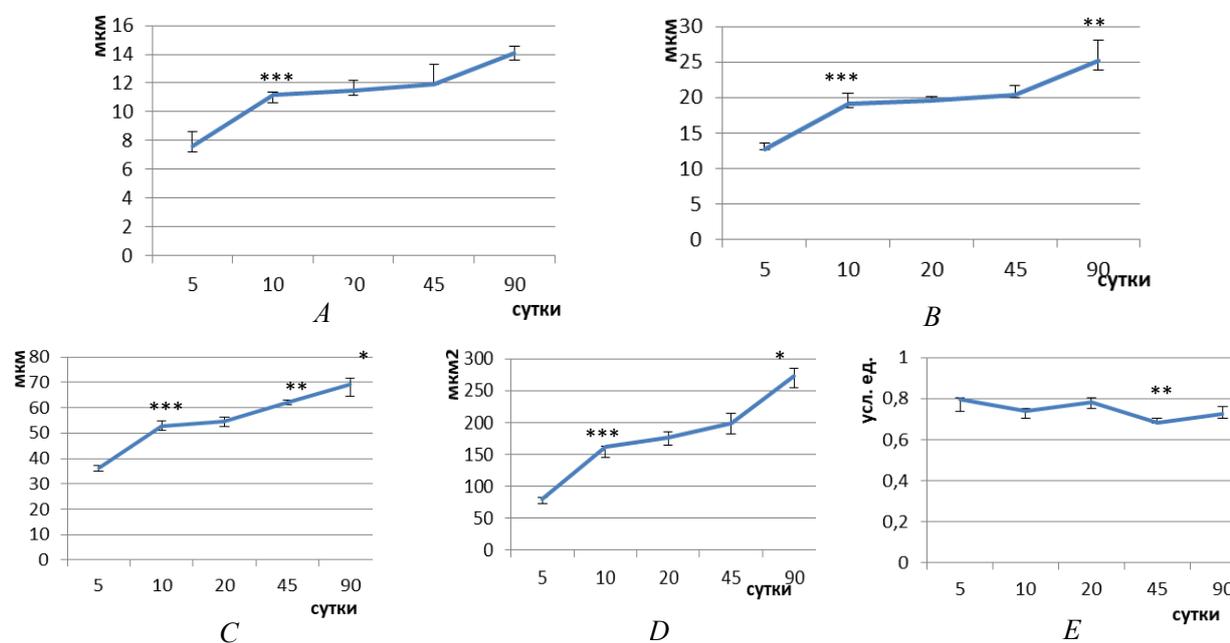


Рис. 1. Динамика изменений минимального (A) и максимального (B) диаметров, периметра (C), площади (D) и форм-фактора (E) перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса в постнатальном онтогенезе (Me (LQ; UQ)).

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  при сравнении с предыдущим сроком

Fig. 1. Dynamics of changes in the minimum (A) and maximum (B) diameters, perimeter (C), area (D) and form factor (E) of pericarya of hypothalamic histaminergic neurons in postnatal ontogenesis (Me (LQ; UQ)). \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$  with comparing to the previous term

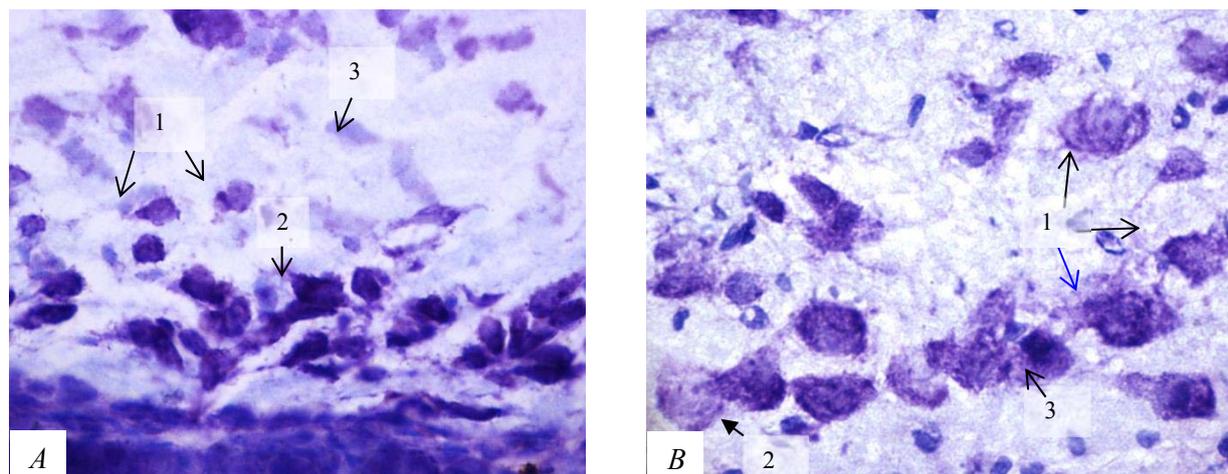


Рис. 2. Гистаминергические нейроны с разной хромотофилией цитоплазмы на 5-е (A) и 90-е (B) сутки постнатального онтогенеза крыс: 1 – нормохромные нейроны; 2 – гипохромные нейроны; 3 – гиперхромные нейроны. Окраска по методу Ниссля. Цифровая микрофотография, ×400

Fig. 2. Histaminergic neurons with different cytoplasm chromatophilia on the 5th (A) and 90th (B) days of rat postnatal ontogenesis: 1 – normochromic neurons; 2 – hypochromic neurons; 3 – hyperchromic neurons. Nissl staining. Digital microphotography, ×400

не меняется. К 90-м суткам постнатального развития форма нейронов снова становится более округлой.

С 5-х по 90-е сутки постнатального онтогенеза наблюдается двукратное уменьшение плотности расположения гистаминергических нейронов на единице площади среза, при этом расстояние между телами нейронов увеличивается в 5,7 раза, наиболее интенсивно (в 4,5 раза) – с 5-х по 20-е сутки.

Анализ гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс по степени хромотофилии цитоплазмы на гистологических препаратах, окрашенных по методу Ниссля, показал, что с 5-х по 90-е сутки постнатального онтогенеза в популяции исследуемых клеток встречаются как нормо-, гипер- и гипохромные нейроны, так и клетки-тени (рис. 2). Следует отметить, что во все исследованные сроки абсолютное большинство составляют нормохромные нейроны. С 5-х по 90-е сутки их количество прогрессивно нарастает (в 1,3 раза), особенно интенсивно (в 1,1 раза) – с 20-х по 45-е сутки. За указанный промежуток времени наблюдается значительное снижение (в 5 раз) количества гиперхромных нейронов, причем наиболее динамично (в 3,2 раза) – с 20-х по 45-е сутки. Следует отметить, что во все описываемые сроки постнатального развития количество гипохромных нейронов и клеток-теней существенно не меняется (см. таблицу).

**Доля гистаминергических нейронов с разной степенью хромотофилии цитоплазмы в разные сроки постнатального онтогенеза крыс (Me (LQ; UQ)), %**

**The ratio (in%) of histaminergic neurons with different cytoplasm chromatophilia in the dynamics of rat postnatal ontogenesis (Me (LQ; UQ)), %**

Сутки	Тип нейронов			
	Нормохромные	Гиперхромные	Гипохромные	Клетки-тени
5-е	60,08 (53,23; 68,92)	15,82 (9,81; 18,81)	19,74 (14,82; 25,28)	5,49 (2,99; 6,17)
10-е	64,29 (63,95; 64,60)	13,27 (12,24; 14,86)	17,35 (16,81; 18,60)	5,81 (5,41; 6,10)
20-е	63,55 (59,02; 63,64)	15,97 (12,15; 18,69)	20,10 (17,34; 21,48)	4,01 (2,29; 5,42)
45-е	70,97 (69,77; 77,08)*	4,65 (3,45; 5,10)*	18,60 (13,79; 20,41)	5,21 (5,17; 6,12)
90-е	74,57 (73,75; 78,79)#	3,27 (3,05; 3,32)*#	15,46 (11,87; 18,67)	4,53 (4,41; 5,63)

Примечание. Достоверность различий ( $p < 0,05$ ) между клеточными показателями гистаминергических нейронов: # – между 5-ми и 90-ми сутками; \* – по сравнению с предыдущим сроком.

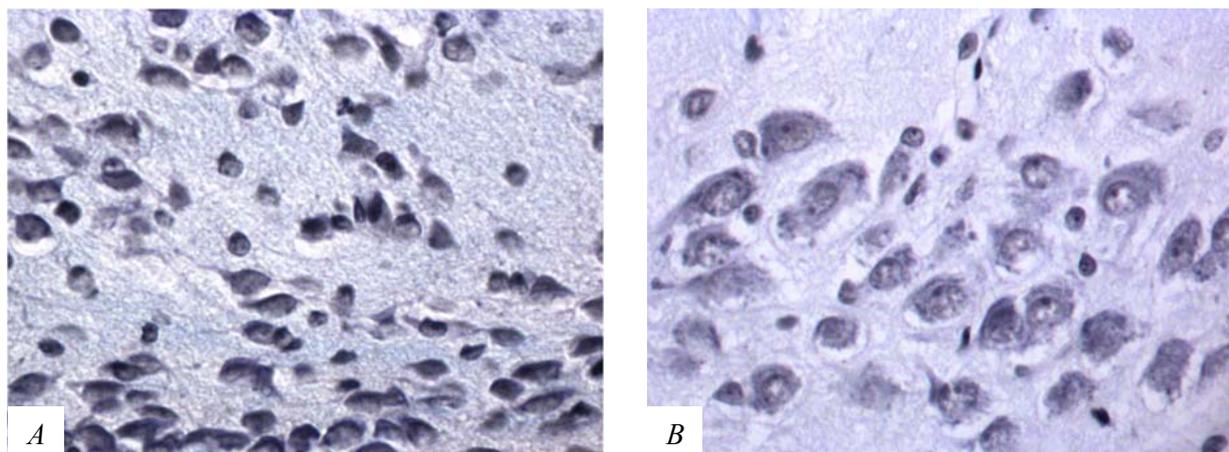


Рис. 3. Содержание РНП в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса 5-суточных (А) и 90-суточных (В) крыс. Окраска по Эйнерсону. Цифровая микрофотография,  $\times 400$

Fig. 3. RNP content in the cytoplasm of hypothalamic histaminergic neurons of 5-day-old (A) and 90-day-old (B) rats. Aineerson staining. Digital microphotography,  $\times 400$

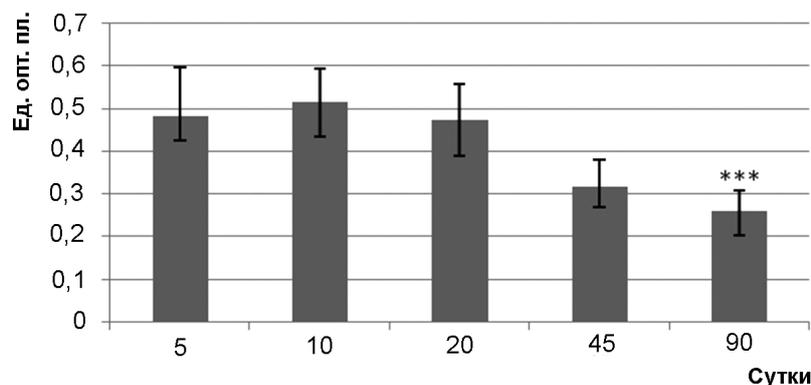


Рис. 4. Динамика содержания РНП в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс в постнатальном онтогенезе (Me (LQ; UQ)). \*\*\* –  $p < 0,001$  при сравнении с предыдущим сроком

Fig. 4. Dynamics of RNP content in the histaminergic neurons cytoplasm of rat hypothalamus in postnatal ontogenesis (Me (LQ; UQ)). \*\*\* –  $p < 0.001$  with comparing to the previous term

Установлено, что содержание РНП в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса с 5-х по 90-е сутки постнатального онтогенеза крыс снижается в 1,8 раза (рис. 3). При этом с 5-х по 10-е сутки данный показатель не претерпевает значительных изменений, а далее уменьшается: с 10-х по 20-е сутки – в 1,1 раза; с 20-х по 45-е сутки – в 1,5; с 45-х по 90-е сутки – в 1,2 раза (рис. 4).

**Обсуждение.** Наиболее интенсивный рост перикарионов гистаминергических нейронов заднего гипоталамуса происходит с 5-х по 10-е сутки после рождения, что приходится на ранний период постнатального онтогенеза крыс. Следует отметить, что этот этап в развитии мозга крысы в целом характеризуется интенсивным ростом нейронов [13]. Подобная динамика прогрессивного роста нейронов головного мозга в постнатальном онтогенезе наблюдалась нами ранее в больших пирамидных нейронах изокортекса и клетках Пуркинью мозжечка [14, 15].

С 5-х по 20-е сутки постнатального онтогенеза крыс у гистаминергических нейронов преобладает округлая форма их перикарионов. К 45-м суткам клетки становятся менее сферичными, что подтверждается уменьшением форм-фактора (показатель сферичности и неровности контура клетки). Это связано с тем, что с 20-х по 45-е сутки минимальный и максимальный диаметры перикарионов гистаминергических нейронов не меняются, а их периметр увеличивается из-за увеличения складчатости плазмолеммы.

С 5-х по 90-е сутки постнатального развития возрастает расстояние между телами гистаминергических нейронов, особенно с 5-х по 20-е сутки, когда рост нейропиля (дендритов гистаминергических нейронов и аксонов афферентных к ним нейронов, а также синапсов между ними) наиболее интенсивный. Данный процесс сопровождается значительным уменьшением количества тел нейронов на единицу площади гистаминергического ядра E2.

Анализ гистаминергических нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы показал, что в постнатальном онтогенезе происходит значительное снижение количества гиперхромных нейронов, особенно с 20-х по 45-е сутки. Гиперхромное окрашивание относят к группе функциональных изменений [16, 17]. При патологических состояниях гиперхроматофилию рассматривают как морфологическое выражение процесса охранительного торможения [18, 19], при котором снижение функций нейрона препятствует его гибели в дальнейшем [20]. Вместе с тем имеются данные, согласно которым темный нейрон – это клетка с интенсивным белковым синтезом, который обеспечивается суперэкспрессией амплифицированных генов [11].

Известно, что гиперхромные нейроны содержат большее количество как свободных, так и связанных рибосом, что и обуславливает их более интенсивное окрашивание по методу Ниссля. Кроме того, повышенное содержание РНП в цитоплазме гиперхромных нейронов свидетельствует об активном биосинтезе белка, особенно для собственных нужд клетки [21]. Вероятно, это и объясняет гиперхроматоз развивающихся гистаминергических нейронов.

С 5-х по 90-е сутки за счет уменьшения числа гиперхромных нейронов в популяции гистаминергических нейронов ядра E2 увеличивается число нормохромных нейронов среди общего количества нейронов с различной степенью хроматофилии цитоплазмы, что может свидетельствовать о стабилизации морфофункционального состояния нейронов по мере их созревания.

Согласно результатам проведенного нами гистохимического исследования, с 5-х по 90-е сутки постнатального онтогенеза крыс содержание РНП снижается, особенно с 20-х по 45-е сутки, и одновременно уменьшается количество гиперхромных нейронов. Это позволяет предположить, что гиперхроматоз в развивающихся гистаминергических нейронах обусловлен повышенным содержанием в них РНП.

**Заключение.** Таким образом, с 5-х по 90-е сутки постнатального онтогенеза крыс происходит значительное увеличение размеров перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса (особенно с 5-х по 10-е сутки). Это сопровождается уменьшением плотности расположения тел исследуемых клеток и увеличением расстояния между ними (особенно с 5-х по 20-е сутки), что свидетельствует об интенсивном росте нейропиля. При этом значительное снижение количества гиперхромных нейронов сопровождается уменьшением содержания РНП в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (M20M-089).

**Acknowledgements.** This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (M20M-089).

### Список использованных источников

1. Haas, H. The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system / H. Haas, P. Panula // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2003. – Vol. 4, N 2. – P. 121–130. <https://doi.org/10.1038/nrn1034>
2. Auvinen, S. Development of histamine-immunoreactive neurons in the rat brain / S. Auvinen, P. Panula // *J. Comp. Neurol.* – 1988. – Vol. 276, N 2. – P. 289–303. <https://doi.org/10.1002/cne.902760211>
3. Distribution of histaminergic neuronal cluster in the rat and mouse hypothalamus / Ch. Moriwaki [et al.] // *J. Chem. Neuroanat.* – 2015. – Vol. 68. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2015.07.001>
4. Panula, P. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease / P. Panula, S. Nuutinen // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2013. – Vol. 14, N 7. – P. 472–487. <https://doi.org/10.1038/nrn3526>
5. Histamine neurons in the tuberomammillary nucleus: a whole center or distinct subpopulations? / P. Blandina [et al.] // *Front Syst. Neurosci.* – 2012. – Vol. 6. – Art. 33. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00033>
6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010 // *Offic. J. Eur. Union.* – 2010. – L 276. – P. 33–79.
7. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – 6th ed. – London : Academic Press, 2007. – 448 p.

8. An analysis of histaminergic efferents of the tuberomammillary nucleus to the medial preoptic area and inferior colliculus of the rat / N. Inagaki [et al.] // *Exp. Brain Res.* – 1990. – Vol. 80, N 2. – P. 374–380. <https://doi.org/10.1007/BF00228164>
9. Коржевский, Д. Э. Применение обезвоживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях / Д. Э. Коржевский, И. П. Григорьев, В. А. Отеллин // *Морфология.* – 2006. – Т. 129, № 1. – С. 85–86.
10. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М. : Изд-во иностр. лит., 1962. – 962 с.
11. Калимуллина, Л. Б. К вопросу о «темных» и «светлых» клетках / Л. Б. Калимуллина // *Мофология.* – 2002. – Т. 122, № 4. – С. 75–80.
12. Батин, Н. В. Компьютерный статистический анализ данных : учеб.-метод. пособие / Н. В. Батин. – Минск : Ин-т подготовки науч. кадров НАН Беларуси, 2008. – 160 с.
13. Дмитриева, Н. И. О периодах развития структур головного мозга в онтогенезе крысы / Н. И. Дмитриева // *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* – 1987. – Т. 17, № 3. – С. 287–293.
14. Зиматкин, С. М. Динамика гистологических изменений во фронтальной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // *Морфология.* – 2016. – Т. 149, № 2. – С. 11–15.
15. Карнюшко, О. А. Нарушения морфогенеза коры мозжечка потомства крыс с экспериментальным холестазом и их коррекция / О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2015. – № 3. – С. 95–101.
16. Gallyas, F. Novel cell-biological ideas deducible from morphological observations on “dark” neurons revisited / F. Gallyas // *Ideggyogy Sz.* – 2007. – Vol. 60, N 5–6. – P. 212–222.
17. Степаненко, А. Ю. Морфометрическая характеристика клеток Пуркинье в коре мозжечка у людей юношеского возраста / А. Ю. Степаненко // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».* – 2010. – Т. 10, № 1. – С. 81–83.
18. Орловская, Д. Д. Нейрон в гиперхромном состоянии / Д. Д. Орловская, В. Н. Клешинов // *Журн. невропатологии и психиатрии.* – 1986. – Т. 87, № 7. – С. 981–988.
19. Попова, Э. Н. Морфология приспособительных изменений нервных структур / Э. Н. Попова, С. К. Лапин, Г. Н. Кривицкая. – М. : Медицина, 1976. – 264 с.
20. Шаповалова, В. В. Структурно-функциональная реорганизация гиппокампа правого и левого полушарий и функциональная межполушарная асимметрия в постренимационном периоде / В. В. Шаповалова, В. В. Семченко // *Мед. вестн. Башкортостана.* – 2009. – Т. 4, № 2. – С. 169–173.
21. Попова, Э. Н. Ультраструктура мозга, алкоголь и потомство / Э. Н. Попова. – М. : Науч. мир, 2010. – 155 с.

## References

1. Haas H., Panula P. The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 2003, vol. 4, no. 2, pp. 121–130. <https://doi.org/10.1038/nrn1034>
2. Auvinen S., Panula P. Development of histamine-immunoreactive neurons in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 1988, vol. 276, no. 2, pp. 289–303. <https://doi.org/10.1002/cne.902760211>
3. Moriwaki Ch., Chiba S., Wei H., Aosa T., Kitamura H., Ina K., Shibata H., Fujikura Y. Distribution of histaminergic neuronal cluster in the rat and mouse hypothalamus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2015, vol. 68, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2015.07.001>
4. Panula P., Nuutinen S. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 2013, vol. 14, no. 7, pp. 472–487. <https://doi.org/10.1038/nrn3526>
5. Blandina P., Munari L., Provensi G., Passani M. B. Histamine neurons in the tuberomammillary nucleus: a whole center or distinct subpopulations? *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2012, vol. 6, art. 33. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00033>
6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010. *Official Journal of the European Union*, 2010, L 276, pp. 33–79.
7. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. London, Academic Press Publ., 2007. 448 p.
8. Inagaki N., Toda K., Taniuchi I., Panula P., Yamatodani A., Tohyama M., Watanabe T., Wada H. An analysis of histaminergic efferents of the tuberomammillary nucleus to the medial preoptic area and inferior colliculus of the rat. *Experimental Brain Research*, 1990, vol. 80, no. 2, pp. 374–380. <https://doi.org/10.1007/BF00228164>
9. Korzhevskii D. E., Grigor'ev I. P., Otellin V. A. The use of dehydrating fixatives containing zinc salts in neurohistological studies. *Morfologiya* [Morphology], 2006, vol. 129, no. 1, pp. 85–86 (in Russian).
10. Pirs E. *Histochemistry theoretical and applied*. Moscow, Izdatel'stvo inostrannoi literatury Publ., 1962. 962 p.
11. Kalimullina L. B. To the question of “dark” and “light” cells. *Morfologiya* [Morphology], 2002, vol. 122, no. 4, pp. 75–80 (in Russian).
12. Batin N. V. *Computer statistical data analysis*. Minsk, Institute of Scientific Personnel Training of the National Academy of Sciences of Belarus, 2008. 160 p. (in Russian).
13. Dmitrieva N. I. On periods of development of brain structures in rat ontogenesis. *Zhurnal evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii* [Journal of evolutionary biochemistry and physiology], 1987, vol. 17, no. 3, pp. 287–293 (in Russian).
14. Zimatkin S. M., Bon' E. I. Dynamics of histological changes in the frontal cortex of rats exposed to antenatal exposure to alcohol. *Morfologiya* [Morphology], 2016, vol. 149, no. 2, pp. 11–15 (in Russian).

15. Karnyushko O. A., Zimatkin S. M. Disorders of the cerebellar cortex morphogenesis of the offspring of rats with experimental cholestasis and their correction. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2015, no. 3, pp. 95–101 (in Russian).

16. Gallyas F. Novel cell-biological ideas deducible from morphological observations on “dark” neurons revisited. *Ideggyogyaszati Szemle*, 2007, vol. 60, no. 5–6, pp. 212–222.

17. Stepanenko A. Yu. Morphometric characteristics of Purkinje cells in the cerebellar cortex in adolescents. *Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini: Visnik Ukraïns'koï medichnoi stomatologichnoi akademii* [Actual problems of modern medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy], 2010, vol. 10, no. 1, pp. 81–83 (in Russian).

18. Orlovskaya D. D., Kleshchinov V. N. A neuron in a hyperchromic state. *Zhurnal nevropatologii i psikhatrii* [Journal of Neuropathology and Psychiatry], 1986, vol. 87, no. 7, pp. 981–988 (in Russian).

19. Popova E. N., Lapin S. K., Krivitskaya G. N. *Morphology of adaptive changes in nerve structures*. Moscow, Meditsina Publ., 1976. 264 p. (in Russian).

20. Shapovalova V. V., Semchenko V. V. Structural and functional reorganization of the hippocampus of the right and left hemispheres and functional interhemispheric asymmetry in the postresuscitative period. *Meditsinskii vestnik Bashkortostana* [Medical bulletin of Bashkortostan], 2009, vol. 4, no. 2, pp. 169–173 (in Russian).

21. Popova E. N. *Ultrastructure of the brain, alcohol and offspring*. Moscow, Nauchnyi mir Publ., 2010. 155 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Заерко Анастасия Викторовна* – аспирант. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: wersall\_91@mail.ru

*Федина Екатерина Михайловна* – канд. биол. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-Mail: phedina.katerina@mail.ru

*Зиматкин Сергей Михайлович* – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: smzimatkin@mail.ru

### Information about the authors

*Anastasiya V. Zaerko* – Postgraduate student. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: wersall\_91@mail.ru

*Katsiaryna M. Phedina* – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: phedina.katerina@mail.ru

*Sergey M. Zimatkin* – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: smzimatkin@mail.ru

**АГЛЯДЫ**  
**REVIEWS**

УДК 577.32

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-497-509>

Поступила в редакцию 19.03.2020

Received 19.03.2020

**В. М. Абашкин<sup>1</sup>, М. М. Терехова<sup>1</sup>, И. В. Галец-Буй<sup>1</sup>, С. Ж. Лозникова<sup>1</sup>, О. Г. Дмитрук<sup>1</sup>,  
К. Миловска<sup>2</sup>, Д. Г. Щербин<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>*Лодзинский университет, Лодзь, Польша*

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДЕНДРИМЕРОВ И ДЕНДРОНИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ  
С БЕЛКАМИ**

**Аннотация.** Дендримеры – это гиперразветвленные полимеры, принадлежащие к классу наноматериалов. Данные наноструктуры и их производные (дендроны или дендронизированные наночастицы) представляют собой мультитаргетные носители, концевые группы которых можно модифицировать для достижения различных задач, в частности таких, как повышение биосовместимости и стабильности, контролируемое высвобождение активных веществ. Расширение сферы использования дендримеров и дендример-подобных структур в биологии и медицине требует понимания основных механизмов их взаимодействия с белками – одними из основных компонентов биологических систем. В зависимости от размера, поверхностного заряда, структуры и жесткости ветвей дендримеров их взаимодействие с белками может сильно различаться. В частности, могут иметь место как электростатические взаимодействия, возникающие из-за наличия у дендримеров и белков поверхностного заряда, так и гидрофобные, за счет соответствующих полостей в структуре дендримеров. Возможно образование водородных связей. Все эти взаимодействия так или иначе могут влиять на структуру и функции белков.

В данном обзоре освещены вопросы механизмов взаимодействия дендримеров и дендронизированных наночастиц с основными белковыми макромолекулами. Рассмотрено влияние наночастиц на вторичную структуру, конформацию, динамику и функциональную активность белков. Описаны различные модели дендример-белковых взаимодействий.

**Ключевые слова:** дендример, белок, белковая корона, наноматериалы

**Для цитирования:** Взаимодействие дендримеров и дендронизированных наночастиц с белками / В. М. Абашкин [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 497–509. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-497-509>

**Viktar M. Abashkin<sup>1</sup>, Maria M. Terehova<sup>1</sup>, Inessa V. Halets-Bui<sup>1</sup>, Svetlana G. Loznikova<sup>1</sup>, Volha G. Dzmitruk<sup>1</sup>,  
Katarzyna Milowska<sup>2</sup>, Dzmitry G. Shcharbin<sup>1</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>*University of Lodz, Lodz, Poland*

**INTERACTIONS OF DENDRIMERS AND DENDRONIZED NANOPARTICLES WITH PROTEINS**

**Abstract.** Dendrimers are hyperbranched polymers belonging to the class of nanomaterials. These nanostructures and their derivatives (dendrons and dendronized nanoparticles) are multi-target nanocarriers that can be modified to achieve various tasks. For example, it is possible to increase biocompatibility and stability, to control the release of active substances. Their widespread use in biology and medicine requires an understanding of the basic mechanisms of their interaction with proteins – one of the main biological systems. The interaction of dendrimers with proteins may vary depending on the size of the ones, surface charge, structure and stiffness of the branches. Here, both electrostatic interactions arising due to the presence of dendrimers and surface charge proteins, as well as hydrophobic ones, due to the corresponding cavities in the structure of dendrimers, can manifest themselves here. The formation of hydrogen bonds is possible. All these interactions in one way or another can affect the structure and functions of proteins.

Present article discusses the mechanisms of interactions between dendrimers, dendronized nanoparticles and protein macromolecules. The effect of nanoparticles on the secondary structure, conformation, dynamics and functional activity of proteins is reviewed. The different models for dendrimer-protein interactions are described.

**Keywords:** dendrimer, protein, protein corona, nanomaterials

**For citation:** Abashkin V. M., Terehova M. M., Halets-Bui I. V., Loznikova S. G., Dzmitruk V. G., Milowska K., Shcharbin D. G. Interactions of dendrimers and dendronized nanoparticles with proteins. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 497–509 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-497-509>

**Введение.** Парентеральное введение наночастиц в медицинских целях неизбежно приводит к их взаимодействию с плазмой крови, содержащей около 2,4 тыс. белков [1, 2]. В ряде случаев наночастицы могут попадать и в спинномозговую жидкость, которая в свою очередь содержит более 2,6 тыс. белков [3]. Если наночастица имеет жесткую поверхность, большой размер, превышающий размер белковой глобулы, а также высокую плотность поверхностного заряда, она может связывать белки на своей поверхности с помощью электростатических или ван-дер-ваальсовых сил, гидрофобных взаимодействий или водородных связей, образуя белковое покрытие на поверхности наночастицы, так называемую «белковую корону» (protein corona) [4]. Однако такие наночастицы, как дендримеры, ведут себя несколько иначе. Их структура довольно гибкая, а размеры малы или сравнимы с белковой глобулой [5]. Дендримеры представляют собой гиперразветвленные полимеры, принадлежащие к классу «мягких» наноматериалов [6–8]. Они имеют шаровидную форму с топологической структурой, образованной ветвями мономерных субъединиц, расходящимися во все стороны от центрального ядра. У дендримеров можно выделить следующие особенности (рис. 1): поверхность, содержащую множество потенциально активных сайтов – терминальных групп; внутренние слои, окружающие ядро; ядро [8]. В настоящее время синтезировано около 200 видов различных дендримеров [9–11]. Наиболее известными в данном классе полимеров являются полиамидаминные (ПАМАМ) дендримеры, состоящие из этилендиаминового ядра и ответвления из метилакрилата и этилендиамина [8]. Кроме того, часто применяются полипропилениминовые (ППИ) дендримеры, ветви которых представляют собой полипропилениминовые мономеры на бутилендиаминовом ядре [12, 13]. Среди прочих типов можно выделить фосфорные дендримеры, в ядре и ветвях которых находятся атомы фосфора [14], а также карбосилановые, в структуре которых располагается кремниевое ядро, а ветви содержат аммонийные или аминогруппы [15]. Интерес представляют и полилизинные дендримеры, основанные на лизине и имеющие полилизинные ветви. Полиглицериновые, меламиновые и триазиновые дендримеры также основаны на соответствующих мономерных звеньях [16]. Среди всего разнообразия дендримеров коммерчески доступны полимеры на основе ПАМАМ (Starburst™), полиэтиленгидроксиламина ПЕГАМ (Priostar™), ППИ (Astramol™) и фосфора.

Архитектура и свойства дендримеров зависят в первую очередь от генерации: количества точек ветвления одного мономера. Малые генерации дендримеров имеют открытую, уплощенную и асимметричную форму, но по мере увеличения генерации структура становится шаровидной, с плотной упаковкой на периферии. В то же время внутри молекул дендримеров имеются полости. Еще одной важной особенностью дендримеров является их монодисперсность. Классический процесс полимеризации обычно является случайным и дает молекулы разных размеров, а размер и молекулярную массу дендримеров можно тонко контролировать во время синтеза. Наконец, концевые группы дендримеров отвечают главным образом за их функциональность, например за высокую степень растворимости и реакционную способность [16, 17].

**Природа дендример-белковых взаимодействий.** Чтобы понять основные принципы взаимодействия «дендример – белок», М. F. Ottaviani с соавт. [18] изучили влияние катионных ПАМАМ дендримеров 2-й (g2) и 6-й (g6) генераций на аминокислоты (глицин, глутамин, аргинин, лейцин) и белки ( $\alpha$ -химотрипсин, альбумин). Сила взаимодействия между дендримерами и аминокислотами описывалась рядом  $\text{Glu} < \text{Gly} < \text{Leu} \approx \text{Arg}$ . Для цвиттерионного Leu это взаимодействие определялось синергетическим эффектом электростатических сил между аминогруппой дендримера и карбоксилатной группой Leu с одной стороны и гидрофобными взаимодействиями боковой цепи Leu с неполярными участками дендримера ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ -группы) – с другой. Установлено, что между Glu и внутренними основными третичными азотами дендримера образуются стабильные ионные пары. Взаимодействие между дендримерами и  $\alpha$ -химотрипсином основывалось как на электростатических силах благодаря высоким значениям pH изоэлектрической

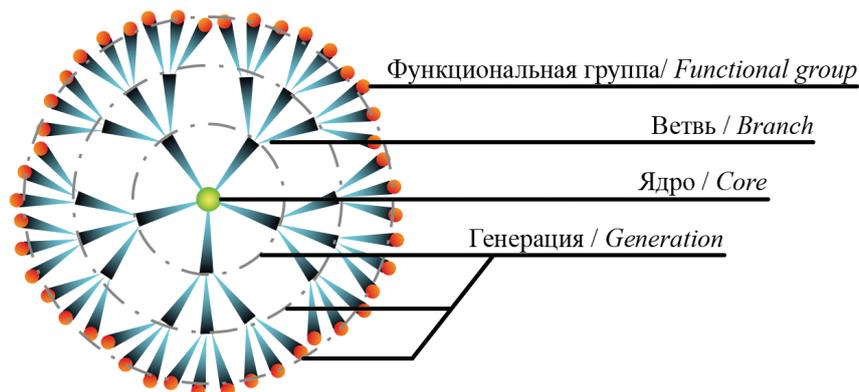


Рис. 1. Схематическая структура дендримера

Fig. 1. Schematic structure of the dendrimer

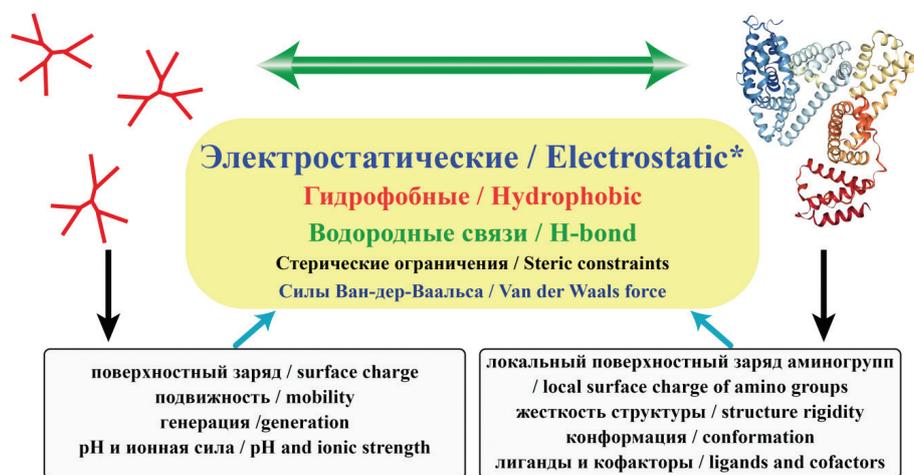


Рис. 2. Механизмы взаимодействия дендримеров с белками (скопировано из ссылки [21] с разрешения издательства Elsevier). Чем больше размер шрифта, тем больший вклад от данного взаимодействия (\* – только для заряженных дендримеров)

Fig. 2. Mechanisms of interaction of dendrimers with proteins (reproduced from Ref. [21] with permission from Elsevier). The larger font size symbolizes the greater importance of this interaction (\* – only for charged dendrimers)

точки ( $pI = 8,3$ ), так и на гидрофобных взаимодействиях из-за наличия гидрофобного кармана связывания аминокислот (например, Leu) в месте связывания субстрата. В то же время взаимодействие между дендримерами и сывороточным альбумином, исследованное с помощью электронного парамагнитного резонанса, было значительно слабее, чем у химотрипсина. Для альбумина авторы постулировали преимущественную роль слабых диполь-дипольных или ион-дипольных взаимодействий между гидрофильными остатками альбумина и поверхностью дендримера [18].

Электростатические силы преобладают во взаимодействиях между катионными и анионными дендримерами и белками (рис. 2). Роль различных типов дендример-белковых взаимодействий можно ранжировать в порядке величины вклада следующим образом:

- 1) электростатические силы между заряженными концевыми группами дендримера и белковыми остатками;
- 2) водородные связи между внутренними группами дендримера и аминокислотными остатками белка;
- 3) гидрофобные взаимодействия между неполярным дендримером и группами белка;
- 4) специфические взаимодействия между карбоксильными группами дендримера и сайтами связывания алифатической кислоты белка [19].

С другой стороны, нами установлено [20], что для взаимодействия между альбуминами и нейтральным ПАМАМ-ОН g4-дендримером более важны гидрофобные взаимодействия и эффект Хофмейстера, тогда как электростатические являются предпочтительными во взаимодействиях между альбуминами и заряженными дендримерами. Таким образом, заряд дендримеров значительно усиливает их взаимодействие с белками по сравнению с нейтральными дендримерами.

Модификация дендримеров сахарами и полиэтиленгликолем существенно меняла их взаимодействие с белками. Анализ активности ингибирования белков маннозилированными дендримерами показал зависимость ингибирования от валентности остатков маннозида и от генерации дендримера (в случае дендримеров на основе лактозы), что указывает на важность стехиометрии в этом процессе [22, 23]. Катионные ПАМАМ g3 и g4 дендримеры, модифицированные полиэтиленгликолем, значительно меняли вторичную структуру и конформацию сывороточного альбумина [24]. ППИ дендримеры (немодифицированные и модифицированные гуанидином или мочевиной) меняли как вторичную структуру, так и термостабильность инсулина [25]. Таким образом, природа поверхностных групп модифицированных дендримеров чрезвычайно важна во взаимодействиях «дендример – белок».

**Временная шкала взаимодействий «дендример–белок».** М. В. Samarada с соавт. [26] исследовали временную шкалу взаимодействий «дендример – белок», используя в качестве примера ферритин и катионный ПАМАМ g4 дендример. Во время начала контакта дендримера с белком в течение первых 4,5 нс преобладали электростатические силы. Другие типы взаимодействий (гидрофобные, ван-дер-ваальсовы, Н-связи) были зафиксированы на втором этапе во временном интервале более 100 нс [26]. Схожие результаты наблюдались в исследованиях молекулярного моделирования взаимодействия дендримеров с лекарственными средствами, нуклеиновыми кислотами, белками и липидными мембранами [27].

**Влияние различных факторов на взаимодействия «дендример – белок».** Проведенное нами исследование взаимодействий между катионными, нейтральными и анионными ПАМАМ g4 дендримерами и альбуминами сыворотки при различных значениях рН и ионной силы среды показало, что взаимодействия были рН-зависимыми [20]. Для катионных дендримеров характерен колоколообразный характер взаимодействия с сывороточными альбуминами (максимум при рН 7,4). Этот эффект можно объяснить рН-зависимым протонированием/депротонированием как дендримерной, так и белковой группы. Добавление солей приводит к значительному снижению уровня взаимодействия «дендример – белок» для всех исследованных дендримеров, обусловленному изменением конформации белка и уплотнением его глобулы, увеличением экранирования по механизму «ион – противоион» и эффектом Гофмейстера [20, 28]. Известно, что в крови альбумины существуют в виде белков, содержащих жирные кислоты (до 30 % v/v). D. Shcharbin с соавт. [29] проанализировали взаимодействие между катионными ПАМАМ g2 и g6 дендримерами и бычьим сывороточным альбумином (свободным и загруженным жирными кислотами). Установлено, что дендримеры ПАМАМ конкурировали с САЧ за жирные кислоты. Загрузка белка двумя или тремя молекулами жирной кислоты приводила к их переходу с САЧ на дендример ПАМАМ [29]. Р. Ruenraroengsak, А. Т. Florence [30] исследовали влияние катионных полилизинных дендримеров в различных концентрациях на актин. Обнаружены три фазы полимеризации актина в зависимости от концентрации дендримера. При низкой концентрации (0,01–1 мкг/мл) дендримеры вели себя как G-актин-связывающий белок. Они связывались с мономером актина, что вызывало снижение концентрации последнего в системе и тем самым удлиняло фазы запаздывания и экспоненты. При более высокой концентрации (10 мкг/мл) дендримеры вызывали фрагментацию актина (например, «разъединение» белка), а при дальнейшем повышении концентрации (до 10–100 мкг/мл) они ускоряли полимеризацию, укорачивая как лаг-фазу, так и экспоненциальную фазу [30]. О. Nowaska с соавт. [31] обнаружили стабилизирующий эффект малых концентраций (до 1,4 мкг/мл) катионных ПАМАМ g3 и g4 дендримеров: данные дендримеры уменьшали агрегацию инсулина. В свою очередь дендримеры ППИ в высоких концентрациях (до 450 мкг/мл) значительно снижали термостабильность инсулина [25].

**Влияние дендримеров на вторичную структуру, конформацию и внутримолекулярную подвижность белковых макромолекул.** Многочисленные сообщения указывают на то, что ден-

дримеры могут влиять на вторичную структуру, конформацию и внутримолекулярную подвижность белков [25, 28, 30–33]. С одной стороны, дендримеры могут связываться с участками поверхности белка, уплотняя его структуру и ограничивая его молекулярную подвижность. С другой стороны, они могут разворачивать глобулярный белок. Наиболее важным фактором является жесткость структуры белка [30, 34, 35], которая имеет решающее значение для определения функциональной реакции белковой макромолекулы, начиная с отсутствия какого-либо эффекта и заканчивая изменениями вторичной структуры, конформации и функции белка [35]. Например, катионные ПАМAM g3 и g4 дендримеры не влияли на щелочную фосфатазу из *E. coli*, которая имеет жесткую структуру, но влияли на лактатдегидрогеназу и аспартат трансминазу [35–37]. Вторым важным фактором является жесткость структуры дендримеров. Нами проанализировано влияние на тромбин трех различных типов дендримеров (фосфорных, карбосилановых и полиамидаминных) и двух гибридных систем, содержащих карбосилановые, виологенные и фосфорные дендритные каркасы в одной молекуле. Все пять дендримеров различались гибкостью структуры, размером и поверхностным зарядом [33]. Удалось установить, что интенсивность взаимодействий между дендримером и тромбином сильно зависит от следующих факторов: химической природы дендримера, его размера, величины поверхностного заряда, а также жесткости ветвей. Наблюдалось два различных процесса: во-первых, более крупные дендримеры со значительным количеством положительно заряженных поверхностных групп оказывали большее влияние, чем меньшие по диаметру. Во-вторых, более жесткие дендримеры, в отличие от гибких, в большей степени меняли вторичную структуру тромбина. При этом воздействие гибких дендримеров приводило к переходу белка из альфа-спирального состояния в неупорядоченное состояние, тогда как под воздействием жестких гибридных систем структура белка менялась из альфа-спирального состояния в бета-листы [33].

**Дендримеры и функциональная активность белков.** Функциональная активность белков в присутствии дендримеров существенно зависела как от жесткости структуры белка, так и от природы и типа дендримера. Например, ПАМAM-ОН g4 и g5 дендримеры снижали активность как  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазы, так и  $\text{Ca}^{2+}$  АТФазы, тогда как дендример ПАМAM-ОН g5 активировал  $\text{Mg}^{2+}$  АТФазу [38]. Нами установлено, что катионные ПАМAM g4, фосфорные g4 и карбосилановые g3 дендримеры оказывают совершенно противоположное влияние на активность различных ферментов сыворотки крови человека: щелочную фосфатазу, лактатдегидрогеназу, аспартат трансминазу, глутамат аминотрансферазу, холинэстеразу, аланин аминотрансферазу, амилазу, креатинкиназу и др., начиная со снижения активности фермента и заканчивая активацией в зависимости от вида фермента и типа взаимодействующего дендримера [35]. Катионные, нейтральные и анионные ПАМAM g4 дендримеры приводили к снижению активности фермента ацетилхолинэстеразы. При этом отрицательный заряд активного каталитического центра ацетилхолинэстеразы является причиной возможного ингибирования катионными лигандами его активности [32]. Согласно полученным данным, катионные и нейтральные ПАМAM g4 дендримеры могут ингибировать ферментативную активность пепсина, поскольку оба способны взаимодействовать как с ферментом, так и с комплексом «фермент – субстрат» [39]. Катионный ПАМAM g4 значительно (в 7 раз) уменьшал индуцируемое ферритином накопление железа [26]. Катионные, нейтральные и анионные ПАМAM дендримеры ингибировали активность комплемента гамма-глобулина [40]. Обнаружено, что ПАМAM дендримеры влияли на иммунореактивность как антител, так и белков САЧ и альфа-1-микροглобулина [41]. Сравнивая эффекты пиперидинового фосфорного АЕ2G3 и катионного, нейтрального и анионного ПАМAM g4 дендримеров на САЧ и альфа-1-микροглобулин мы пришли к выводу, что в случае эквимольных комплексов эти дендримеры не оказывают существенного влияния на иммунореактивность белков. В то же время образование комплексов, в которых белки были полностью связаны с дендримерами, приводит к частичному снижению иммунореактивности этих белков. Наиболее важным фактом является то, что иммунореактивность белков частично сохранялась даже в случае полного связывания белков дендримерами [41].

**Взаимодействие модифицированных наночастиц с белками.** Золотые наночастицы представляют собой вид наноматериалов, обладающих жесткой структурой. Значительное отношение

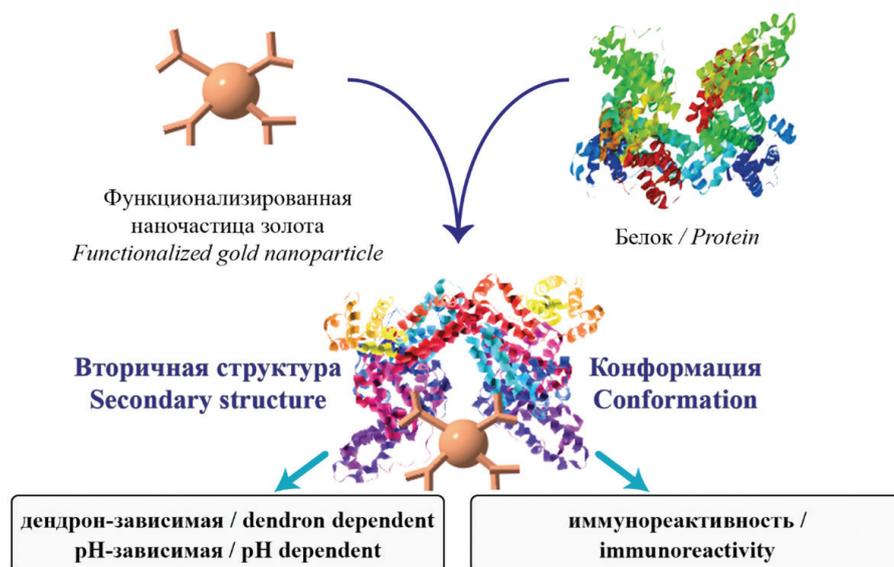


Рис. 3. Взаимодействие белков с дендронизированными золотыми наночастицами

Fig. 3. The interaction of proteins with dendronized gold nanoparticles

площади поверхности к объему, стабильность, высокий потенциал биосовместимости, широкие возможности и простота функционализации делают их весьма привлекательными для применения в биомедицинских целях. В частности, высокая аффинность золотых наночастиц с биомолекулами позволила использовать их в генной терапии в качестве носителей нуклеиновых кислот [42–45]. Нами предложена модификация наночастиц катионными карбосиловыми дендронами с целью улучшения транспорта нуклеиновых кислот [46]. Однако можно предположить, что такая модификация приведет к изменению их взаимодействия с белками (рис. 3). С этой целью нами изучено влияние дендронизированных золотых наночастиц на альфа-1-микроглобулин и альбумин человека [47, 48]. Обнаружено, что функционализация золотых наночастиц катионными дендронами существенно снижает их взаимодействие с белками [46–48]. Показано также, что золотые наночастицы уменьшают иммунореактивность белковых макромолекул. Сравнив три наночастицы с различной дендронизацией, мы пришли к выводу, что влияние наночастиц на структуру альфа-1-микроглобулина и альбумина значительно уменьшилось с дендронами второй и третьей генераций в результате меньшего воздействия металлических наночастиц, находящихся в составе наночастиц, на белки. При этом сами дендроны не оказывали никакого эффекта на белки. Таким образом, дендронизация наночастиц золота помогает изменить их свойства связывания, защищая их от взаимодействия с белками плазмы крови [47, 48].

**Модели дендример-белковых взаимодействий.** Первая модель дендример-белковых взаимодействий, предложенная В. Klajnert с соавт. [49] в 2003 г., была основана на электростатических силах. В 2007 г. D. Shcharbin с соавт. [50] на основе взаимодействия между катионным ПАМAM дендримером и сывороточными альбуминами предложили новую модель, в которой было доказано существование сайтов для неспецифического связывания дендримера (5–6 сайтов связывания для альбумина). Эти сайты базируются на наличии локальных участков с заряженными аминокислотными остатками на поверхности белка [50]. В 2008 г. N. A. Licata, A. V. Tkachenko [51] предложили специальную модель для взаимодействия между конъюгированными с фолиевой кислотой дендримерами и рецепторными белками, в которой дендример с рядом «ключей» (фолиевые кислоты) взаимодействует с «замками» (фолат-связывающими белками) на поверхности клеточной мембраны. При отсутствии диффузии оптимальная конфигурация может быть получена только при множественных событиях связывания и рассоединения «ключей» с «замками» [51]. По условиям эксперимента дендримеры связаны с фолиевой кислотой одной жесткой связью. Это приводит к ограниченной кооперативности при связывании фолатных дендримеров с раковыми клетками, сверхэкспрессирующими множество фолатных рецепторов.

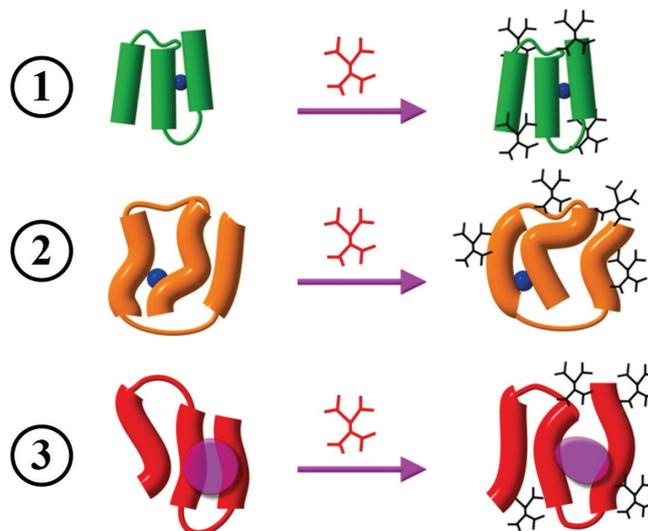


Рис. 4. Модель «дендримеры и гибкие белки» (скопировано из ссылки [21] с разрешения издательства Elsevier): 1 – белок с жесткой структурой (активный центр внутри, дендример не влияет на белок); 2 – белок с подвижной структурой (активный центр внутри, дендример влияет на конформацию и динамику, но не на активность фермента); 3 – белок с подвижной структурой (активный центр снаружи, дендример изменяет конформацию, динамику и активность фермента)

Fig. 4. The model “dendrimers and flexible proteins” (reproduced from Ref. [21] with permission from Elsevier): 1 – protein with rigid structure (active center inside, dendrimer does not affect protein); 2 – protein with mobile structure (active center inside, dendrimer affects conformation and dynamics, but not enzyme activity); 3 – protein: mobile structure (active center outside, dendrimer changes the conformation, dynamics and activity of the enzyme)

Авторы пришли к выводу, что наличие дополнительного гибкого соединения (например, одноцепочечной ДНК) между фолиевой кислотой и молекулой дендримера может значительно увеличить множественность связывания между фолатными дендримерами и фолатными белками-рецепторами [51]. В 2010 г. F. Chiba с соавт. [52] предложили модель «горячих сайтов» взаимодействий «дендример – белок», основанную на «горячих сайтах» белковой глобулы, которая связывает дендримеры. В этой модели ингибирование белка может быть определено с помощью простого связывания в «горячих сайтах», где отрицательно заряженный дендример связывается с положительно заряженной областью «горячего сайта». Второй случай аналогичен предыдущему, но для максимального связывания изменяется форма белка (денатурация). Наконец, дендример может связываться с удаленным сайтом, что приводит к денатурации и дезактивации белка [52]. В 2015 г. D. Shcharbin с соавт. [34] предложили модель «дендримеров и гибких белков», в которой по крайней мере три различных типа взаимодействия происходят в зависимости от природы белка (рис. 4). С одной стороны, дендримеры не влияют на белки с жесткими структурами, активные центры которых скрыты глубоко внутри. В этом случае вторичная структура и конформация ферментов не меняются, все взаимодействия происходят на поверхности глобулярного белка и отсутствует влияние на активность фермента. С другой стороны, дендримеры способны влиять на структуру и конформацию гибких белков, не изменяя их ферментативную активность при условии, что активный сайт находится внутри белковой глобулы. В третьем случае дендримеры меняют как структуру, так и активность ферментов подвижных белков, имеющих поверхностные активные центры [21, 34].

**Заключение.** Наномедицина – это дисциплина, которая объединяет классическую химию, биологию, медицину и физику, позволяя применять нанообъекты для диагностики и лечения различных заболеваний. В связи с этим очень важно понимать основные принципы взаимодействия наносистем с основными молекулярными и биохимическими системами организма, в частности с белками. Суммируя вышесказанное, следует отметить, что электростатические силы играют основную роль во взаимодействиях «заряженный дендример – белок», и эти силы зависят от свойств обоих участников: гибкости и поверхностного заряда дендримера, жесткости

структуры белка и локализации заряженных аминокислот у его поверхности. Связывание дендримеров с белком может менять вторичную структуру, конформацию, внутримолекулярную подвижность и функциональную активность белковой макромолекулы. На основании этих фундаментальных принципов в настоящее время разрабатываются такие новые направления инновационной наномедицины, как, например, доставка лекарств с использованием наноматериалов, что улучшит биодоступность и фармакокинетику лекарств. Использование нанотехнологий позволит преодолевать биологические барьеры для доставки терапевтических агентов непосредственно к определенным клеткам и тканям (например, в мозг через гематоэнцефалический барьер) и будет способствовать улучшению терапевтических эффектов в биологических системах (биораспределение, действие и выведение лекарств). Наночастицы, входя в состав биосовместимых материалов, находят применение при изготовлении имплантатов, что повышает долговечность и срок службы последних, позволяют ускорить заживление поврежденных тканей и органов после хирургического вмешательства. Наконец, наночастицы уже сегодня широко распространены в качестве инструментов визуализации многих процессов в организме с использованием меченых дендритных наноконъюгатов, квантовых точек, наночастиц золота.

Применение нанотехнологий позволит развить новые направления для лечения некоторых неизлечимых в настоящее время заболеваний, будет способствовать борьбе с резистентными патогенами, а также значительно улучшит качество медицинского обслуживания и сделает его более экономически эффективным.

**Благодарности.** Данная работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Госкомитетом Республики Беларусь по науке и технологиям, гранты Б19АРМГ-002, Б20СЛКГ-002; Польским агентством NAWA, грант EUROPARTNER, no. PPI/APM/2018/1/00007/U/001; Польским министерством высшего образования и науки в рамках польско-белорусского сотрудничества; Государственной программой Республики Беларусь «Инновационные биотехнологии – 2020», мероприятие 43.

**Acknowledgements.** This work was supported by grants Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and State Committee of the Republic of Belarus for Science and Technology, grants B19ARMG-002 B20SLKG-002; Polish agency NAWA, grant EUROPARTNER, no. PPI/APM/2018/1/00007/U/001; Polish Ministry of Higher Education and Science in the framework of the Polish-Belarusian cooperation; The state program of the Republic of Belarus “Innovative Biotechnologies – 2020”, event 43.

### Список использованных источников

1. Toward a human blood serum proteome: analysis by multidimensional separation coupled with mass spectrometry / J. N. Adkins [et al.] // *Mol. Cell. Proteomics*. – 2002. – Vol. 1, N 12. – P. 947–955. <https://doi.org/10.1074/mcp.M200066-MCP200>
2. Characterization of the human blood plasma proteome / Y. Shen [et al.] // *Proteomics*. – 2005. – Vol. 5, N 15. – P. 4034–4045. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401246>
3. Establishing the proteome of normal human cerebrospinal fluid / S. E. Schutzer [et al.] // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 5, N 6. – P. e10980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010980>
4. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface / A. E. Nel [et al.] // *Nat. Mater.* – 2009. – Vol. 8, N 7. – P. 543–557. <https://doi.org/10.1038/nmat2442>
5. A new class of polymers: starburst-dendritic macromolecules / D. A. Tomalia [et al.] // *Polym. J.* – 1985. – Vol. 17, N 1. – P. 132–147.
6. Menjoge, A. R. Dendrimer-based drug and imaging conjugates: design considerations for nanomedical applications / A. R. Menjoge, R. M. Kannan, D. A. Tomalia // *Drug Discovery Today*. – 2010. – Vol. 15, N 5–6. – P. 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.01.009>
7. Can dendrimer based nanoparticles fight neurodegenerative diseases? Current situation versus other established approaches / S. Mignani [et al.] // *Prog. Polym. Sci.* – 2017. – Vol. 64. – P. 23–51. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2016.09.006>
8. Tomalia, D. A. Dendritic effects: dependency of dendritic nano-periodic property patterns on critical nanoscale design parameters (CNDPs) / D. A. Tomalia // *New J. Chem.* – 2012. – Vol. 36, N 2. – P. 264–281. <https://doi.org/10.1039/C1NJ20501C>
9. Tomalia, D. A. Dendrimers, dendrons, and dendritic polymers. Discovery, applications, and the future / D. A. Tomalia, J. B. Christensen, U. Boas. – Cambridge : Cambridge Univ. Press, 2012. – 420 p.
10. Fluorescent phosphorus dendrimer as a spectral nanosensor for macrophage polarization and fate tracking in spinal cord injury / A. Shakhbazau [et al.] // *Macromol. Biosci.* – 2015. – Vol. 15, N 11. – P. 1523–1534. <https://doi.org/10.1002/mabi.201500150>

11. Tomalia, D. A. A systematic framework and nanoporous concept for unifying nanoscience: Hard/soft nanoelements, superatoms, meta-Atoms, new emerging properties, periodic property patterns, and predictive mendeleev-like nanoporous tables / D. A. Tomalia, S. N. Khanna // *Chem. Rev.* – 2016. – Vol. 116, N 4. – P. 2705–2774. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00367>
12. Shcharbin, D. How to study dendriplexes I: characterization / D. Shcharbin, E. Pedziwiatr, M. Bryszewska // *J. Control. Release.* – 2009. – Vol. 135, N 3. – P. 186–197. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.01.015>
13. How to study dendriplexes II: transfection and cytotoxicity / D. Shcharbin [et al.] // *J. Control. Release.* – 2010. – Vol. 141, N 2. – P. 110–127. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.09.030>
14. Water-soluble polycationic dendrimers with a phosphoramidothioate backbone: preliminary studies of cytotoxicity and oligonucleotide/plasmid delivery in human cell culture. / M. Maszewska [et al.] // *Oligonucleotides.* – 2003. – Vol. 13, N 4. – P. 193–205. <https://doi.org/10.1089/154545703322460586>
15. Water-soluble carbosilane dendrimers: synthesis biocompatibility and complexation with oligonucleotides; evaluation for medical applications / J. F. Bermejo [et al.] // *Chem. Eur. J.* – 2007. – Vol. 13, N 2. – P. 483–495. <https://doi.org/10.1002/chem.200600594>
16. Mignani, S. Dendrimer space exploration: an assessment of dendrimers/dendritic scaffolding as inhibitors of protein – protein interactions, a potential new area of pharmaceutical development / S. Mignani, M. M. Bousmina, J. Majoral // *Chem. Rev.* – 2013. – Vol. 114, N 2. – P. 1327–1342. <https://doi.org/10.1021/cr400362r>
17. Expand classical drug administration ways by emerging routes using dendrimer drug delivery systems: a concise overview / S. Mignani [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2013. – Vol. 65, N 10. – P. 1316–1330. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.01.001>
18. Interactions of dendrimers with selected amino acids and proteins studied by continuous wave EPR and fourier transform EPR / M. F. Ottaviani [et al.] // *Langmuir.* – 2004. – Vol. 20, N 23. – P. 10238–10245. <https://doi.org/10.1021/la0485881>
19. Interactions of poly(amidoamine) dendrimers with human serum albumin: binding constants and mechanisms / J. Giri [et al.] // *ACS Nano.* – 2011. – Vol. 5, N 5. – P. 3456–3468. <https://doi.org/10.1021/nn1021007>
20. Shcharbin, D. The effect of PAMAM dendrimers on human and bovine serum albumin at different pH and NaCl concentrations / D. Shcharbin, B. Klajnert, M. Bryszewska // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* – 2005. – Vol. 16, N 9. – P. 1081–1093. <https://doi.org/10.1163/1568562054798518>
21. Dendrimer-protein interactions versus dendrimer-based nanomedicine / D. Shcharbin [et al.] // *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* – 2017. – Vol. 152. – P. 414–422. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.041>
22. Lactose-containing starburst dendrimers: Influence of dendrimer generation and binding-site orientation of receptors (plant/animal lectins and immunoglobulins) on binding properties / S. André [et al.] // *Glycobiology.* – 1999. – Vol. 9, N 11. – P. 1253–1261. <https://doi.org/10.1093/glycob/9.11.1253>
23. Pagé, D. Macromolecular recognition: effect of multivalency in the inhibition of binding of yeast mannan to concanavalin A and pea lectins by mannosylated dendrimers / D. Pagé, D. Zanini, R. Roy // *Bioorg. Med. Chem.* – 1996. – Vol. 4, N 11. – P. 1949–1961. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(96\)00177-0](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(96)00177-0)
24. Dendrimers bind human serum albumin / E. Froehlich [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* – 2009. – Vol. 113, N 19. – P. 6986–6993. <https://doi.org/10.1021/jp901119>
25. Dendrimers destabilize proteins in a generation-dependent manner involving electrostatic interactions / L. Giehm [et al.] // *Biopolymers: Orig. Res. Biomol.* – 2008. – Vol. 89, N 6. – P. 522–529. <https://doi.org/10.1002/bip.20921>
26. PAMAM G4 dendrimers as inhibitors of the iron storage properties of human L-chain ferritin / M. B. Camarada [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2015. – Vol. 17, N 29. – P. 19001–19011. <https://doi.org/10.1039/C5CP02594J>
27. Molecular modeling to study dendrimers for biomedical applications / N. Martinho [et al.] // *Molecules.* – 2014. – Vol. 19, N 12. – P. 20424–20467. <https://doi.org/10.3390/molecules191220424>
28. Dendrimer-protein interactions studied by tryptophan room temperature phosphorescence / E. Gabellieri [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta – Proteins Proteomics.* – 2006. – Vol. 1764, N 11. – P. 1750–1756. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.09.008>
29. Impact of PAMAM G2 and G6 dendrimers on bovine serum albumin (fatty acids free and loaded with different fatty acids) / D. Shcharbin [et al.] // *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* – 2008. – Vol. 63, N 1. – P. 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.10.020>
30. Ruenaroengsak, P. Biphasic interactions between a cationic dendrimer and actin / P. Ruenaroengsak, A. T. Florence // *J. Drug Target.* – 2010. – Vol. 18, N 10. – P. 803–811. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2010.521159>
31. Stabilizing effect of small concentrations of PAMAM dendrimers at the insulin aggregation / O. Nowacka [et al.] // *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* – 2014. – Vol. 116. – P. 757–760. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.056>
32. Effect of dendrimers on pure acetylcholinesterase activity and structure / D. Shcharbin [et al.] // *Bioelectrochemistry.* – 2006. – Vol. 68, N 1. – P. 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2005.04.001>
33. Binding of poly(amidoamine), carbosilane, phosphorus and hybrid dendrimers to thrombin – constants and mechanisms / D. Shcharbin [et al.] // *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* – 2017. – Vol. 155. – P. 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.03.053>
34. Nanoparticle corona for proteins: Mechanisms of interaction between dendrimers and proteins / D. Shcharbin [et al.] // *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* – 2015. – Vol. 134. – P. 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.07.017>
35. Interference of cationic polymeric nanoparticles with clinical chemistry tests-clinical relevance / D. Shcharbin [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2014. – Vol. 473, N 1–2. – P. 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.07.054>

36. Effect of dendrimers on selected enzymes – Evaluation of nano carriers / M. Ionov [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2016. – Vol. 499, N 1–2. – P. 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.12.056>
37. Interaction between dendrimers and regulatory proteins. Comparison of effects of carbosilane and carbosilane–viologen–phosphorus dendrimers / A. Szwed [et al.] // *RSC Adv.* – 2016. – Vol. 6, N 100. – P. 97546–97554. <https://doi.org/10.1039/C6RA16558C>
38. The influence of PAMAM-OH dendrimers on the activity of human erythrocytes ATPases / M. Ciolkowski [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta – Biomembr.* – 2011. – Vol. 1808, N 11. – C. 2714–2723. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.021>
39. The influence of PAMAM dendrimers surface groups on their interaction with porcine pepsin / M. Ciolkowski [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta – Proteins Proteomics.* – 2013. – Vol. 1834, N 10. – P. 1982–1987. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.06.020>
40. Effect of poly(amidoamine) dendrimers on the structure and activity of immune molecules / J. Lin [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta – Gen. Subj.* – 2015. – Vol. 1850, N 2. – P. 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.016>
41. Immunoreactivity changes of human serum albumin and alpha-1-microglobulin induced by their interaction with dendrimers / T. Serchenya [et al.] // *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* – 2019. – Vol. 179. – P. 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.065>
42. Design of multifunctional gold nanoparticles for *in vitro* and *in vivo* gene silencing / J. Conde [et al.] // *ACS Nano.* – 2012. – Vol. 6, N 9. – P. 8316–8324. <https://doi.org/10.1021/nn3030223>
43. Khlebtsov, N. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies / N. Khlebtsov, L. Dykman // *Chem. Soc. Rev.* – 2011. – Vol. 40, N 3. – P. 1647–1671. <https://doi.org/10.1039/C0CS00018C>
44. Therapeutic benefits from nanoparticles: The potential significance of nanoscience in diseases with compromise to the blood brain barrier / S. Krol [et al.] // *Chem. Rev.* – 2013. – Vol. 113, N 3. – P. 1877–1903. <https://doi.org/10.1021/cr200472g>
45. Pissuwan, D. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems / D. Pissuwan, T. Niidome, M. B. Cortie // *J. Control. Release.* – 2011. – Vol. 149, N 1. – P. 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.12.006>
46. Gold nanoparticles stabilized by cationic carbosilane dendrons: synthesis and biological properties / C. E. Peña-González [et al.] // *Dalt. Trans.* – 2017. – Vol. 46, N 27. – P. 8736–8745. <https://doi.org/10.1039/C6DT03791G>
47. Dendronization of gold nanoparticles decreases their effect on human alpha-1-microglobulin / E. Pedziwiatr-Werbicka [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 108. – P. 936–941. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.004>
48. Role of cationic carbosilane dendrons and metallic core of functionalized gold nanoparticles in their interaction with human serum albumin / D. Shcharbin [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 118, pt. B. – P. 1773–1780. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.023>
49. Interactions between PAMAM dendrimers and bovine serum albumin / P. Klajnert [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – Vol. 1648, N 1–2. – P. 115–126. [https://doi.org/10.1016/S1570-9639\(03\)00117-1](https://doi.org/10.1016/S1570-9639(03)00117-1)
50. Serum albumins have five sites for binding of cationic dendrimers / D. Shcharbin [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta – Proteins Proteomics.* – 2007. – Vol. 1774, N 7. – P. 946–951. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2007.04.016>
51. Licata, N. A. Kinetic limitations of cooperativity-based drug delivery systems / N. A. Licata, A. V. Tkachenko // *Phys. Rev. Lett.* – 2008. – Vol. 100, N 15. – P. 158102. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.158102>
52. Chiba, F. Investigating possible changes in protein structure during dendrimer-protein binding / F. Chiba, G. Mann, L. J. Twyman // *Org. Biomol. Chem.* – 2010. – Vol. 8, N 22. – P. 5056–5058. <https://doi.org/10.1039/c0ob00041h>

## References

1. Adkins J. N., Varnum S. M., Auberry K. J., Moore R. J., Angell N. H., Smith R. D., Springer D. L., Pounds J. G. Toward a human blood serum proteome: analysis by multidimensional separation coupled with mass spectrometry. *Molecular and Cellular Proteomics*, 2002, vol. 1, no. 12, pp. 947–955. <https://doi.org/10.1074/mcp.M200066-MCP200>
2. Shen Y., Kim J., Strittmatter E. F., Jacobs J. M., Camp D. G., Fang R., Tolié N., Moore R. J., Smith R. D. Characterization of the human blood plasma proteome. *Proteomics*, 2005, vol. 5, no. 15, pp. 4034–4045. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401246>
3. Schutzer S. E., Liu T., Natelson B. H., Angel T. E., Schepmoes A. A., Purvine S. O., Hixson K. K., Lipton M. S., Camp D. G., Coyle P. K., Smith R. D., Bergquist J. Establishing the proteome of normal human cerebrospinal fluid. *PLoS ONE*, 2010, vol. 5, no. 6, p. e10980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010980>
4. Nel A. E., Mädler L., Velegol D., Xia T., Hoek E. M., Somasundaran P., Klaessig F., Castranova V., Thompson M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature Materials*, 2009, vol. 8, no. 7, pp. 543–557. <https://doi.org/10.1038/nmat2442>
5. Tomalia D. A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P. A new class of polymers: starburst-dendritic macromolecules. *Polymer Journal*, 2002, vol. 34, no. 5, pp. 132–147.
6. Menjog, A. R., Kannan R. M., Tomalia D. A. Dendrimer-based drug and imaging conjugates: design considerations for nanomedical applications. *Drug Discovery Today*, 2010, vol. 15, no. 5–6, pp. 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.01.009>
7. Mignani S., Bryszewska M., Zablocka M., Klajnert-Maculewicz B., Cladera J., Shcharbin D., Majoral J.-P. Can dendrimer based nanoparticles fight neurodegenerative diseases? Current situation versus other established approaches. *Progress in Polymer Science*, 2017, vol. 64, pp. 23–51. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2016.09.006>

8. Tomalia D. A. Dendritic effects: dependency of dendritic nano-periodic property patterns on critical nanoscale design parameters (CNDPs). *New Journal of Chemistry*, 2012, vol. 36, no. 2, pp. 264–281. <https://doi.org/10.1039/C1NJ20501C>
9. Tomalia D. A., Christensen J. B., Boas U. *Dendrimers, dendrons, and dendritic polymers. Discovery, applications, and the future*. Cambridge, Cambridge University Press, 2012. 420 p.
10. Shakhbazau A., Mishra M., Chu T. H., Brideau C., Cummins K., Tsutsui S. [et al.]. Fluorescent phosphorus dendrimer as a spectral nanosensor for macrophage polarization and fate tracking in spinal cord injury. *Macromolecular Bioscience*, 2015, vol. 15, no. 11, pp. 1523–1534. <https://doi.org/10.1002/mabi.201500150>
11. Tomalia D. A., Khanna S. N. A systematic framework and nanoperiodic concept for unifying nanoscience: Hard/soft nanoelements, superatoms, meta-atoms, new emerging properties, periodic property patterns, and predictive Mendeleev-like nanoperiodic tables. *Chemical Reviews*, 2016, vol. 116, no. 4, pp. 2705–2774. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00367>
12. Shcharbin D., Pedziwiatr E., Bryszewska M. How to study dendriplexes I: Characterization. *Journal of Controlled Release*, 2009, vol. 135, no. 3, pp. 186–197. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.01.015>
13. Shcharbin D., Pedziwiatr E., Blasiak J., Bryszewska M. How to study dendriplexes II: Transfection and cytotoxicity. *Journal of Controlled Release*, 2010, vol. 141, no. 2, pp. 110–127. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.09.030>
14. Maszewska M., Leclair J., Cieslak M., Nawrot B., Okruszek A., Caminade A. M., Majoral J. P. Water-soluble polycationic dendrimers with a phosphoramidothioate backbone: preliminary studies of cytotoxicity and oligonucleotide/plasmid delivery in human cell culture. *Oligonucleotides*, 2003, vol. 13, no. 4, pp. 193–205. <https://doi.org/10.1089/154545703322460586>
15. Bermejo J. F., Ortega P., Chonco L., Eritja R., Samaniego R., Müllner M. [et al.]. Water-soluble carbosilane dendrimers: synthesis biocompatibility and complexation with oligonucleotides; evaluation for medical applications. *Chemistry – a European Journal*, 2007, vol. 13, no. 2, pp. 483–495. <https://doi.org/10.1002/chem.200600594>
16. Mignani S., El Kazzouli S., Bousmina M. M., Majoral J. P. Dendrimer space exploration: an assessment of dendrimers/dendritic scaffolding as inhibitors of protein–protein interactions, a potential new area of pharmaceutical development. *Chemical Reviews*, 2014, vol. 114, no. 2, pp. 1327–1342. <https://doi.org/10.1021/cr400362r>
17. Mignani S., El Kazzouli S., Bousmina M., Majoral J. P. Expand classical drug administration ways by emerging routes using dendrimer drug delivery systems: a concise overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013, vol. 65, no. 10, pp. 1316–1330. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.01.001>
18. Ottaviani M. F., Jockusch S., Turro N. J., Tomalia D. A., Barbon A. Interactions of dendrimers with selected amino acids and proteins studied by continuous wave EPR and Fourier transform EPR. *Langmuir*, 2004, vol. 20, no. 23, pp. 10238–10245. <https://doi.org/10.1021/la0485881>
19. Giri J., Diallo M. S., Simpson A. J., Liu Y., Goddard III W. A., Kumar R., Woods G. C. Interactions of poly(amidoamine) dendrimers with human serum albumin: binding constants and mechanisms. *Acs Nano*, 2011, vol. 5, no. 5, pp. 3456–3468. <https://doi.org/10.1021/nn1021007>
20. Shcharbin D., Klajnert B., Bryszewska M. The effect of PAMAM dendrimers on human and bovine serum albumin at different pH and NaCl concentrations. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2005, vol. 16, no. 9, pp. 1081–1093. <https://doi.org/10.1163/1568562054798518>
21. Shcharbin D., Shcharbina N., Dzmitruk V., Pedziwiatr-Werbicka E., Ionov M., Mignani S. [et al.]. Dendrimer-protein interactions versus dendrimer-based nanomedicine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2017, vol. 152, pp. 414–422. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.041>
22. André S., Cejas Ortega P. J., Perez M. A., Roy R., Gabius H.-J. Lactose-containing starburst dendrimers: influence of dendrimer generation and binding-site orientation of receptors (plant/animal lectins and immunoglobulins) on binding properties. *Glycobiology*, 1999, vol. 9, no. 11, pp. 1253–1261. <https://doi.org/10.1093/glycob/9.11.1253>
23. Pagé D., Zanini D., Roy R. Macromolecular recognition: effect of multivalency in the inhibition of binding of yeast mannan to concanavalin A and pea lectins by mannosylated dendrimers. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 1996, vol. 4, no. 11, pp. 1949–1961. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(96\)00177-0](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(96)00177-0)
24. Froehlich E., Mandeville J. S., Jennings C. J., Sedaghat-Herati R., Tajmir-Riahi H. A. Dendrimers bind human serum albumin. *Journal of Physical Chemistry B*, 2009, vol. 113, no. 19, pp. 6986–6993. <https://doi.org/10.1021/jp9011119>
25. Giehm L., Christensen C., Boas U., Heegaard P. M., Otzen D. E. Dendrimers destabilize proteins in a generation-dependent manner involving electrostatic interactions. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 2008, vol. 89, no. 6, pp. 522–529. <https://doi.org/10.1002/bip.20921>
26. Camarada M. B., Márquez-Miranda V., Araya-Durán I., Yévenes A., González-Nilo F. PAMAM G4 dendrimers as inhibitors of the iron storage properties of human L-chain ferritin. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2015, vol. 17, no. 29, pp. 19001–19011. <https://doi.org/10.1039/C5CP02594J>
27. Martinho N., Florindo H., Silva L., Brocchini S., Zloh M., Barata T. Molecular modeling to study dendrimers for biomedical applications. *Molecules*, 2014, vol. 19, no. 12, pp. 20424–20467. <https://doi.org/10.3390/molecules191220424>
28. Gabellieri E., Strambini G. B., Shcharbin D., Klajnert B., Bryszewska M. Dendrimer–protein interactions studied by tryptophan room temperature phosphorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2006, vol. 1764, no. 11, pp. 1750–1756. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2006.09.008>
29. Shcharbin D., Ottaviani M. F., Cangiotti M., Przybyszewska M., Zaborski M., Bryszewska M. Impact of PAMAM G2 and G6 dendrimers on bovine serum albumin (fatty acids free and loaded with different fatty acids). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, vol. 63, no. 1, pp. 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.10.020>

30. Ruenraroengsak P., Florence A. T. Biphasic interactions between a cationic dendrimer and actin. *Journal of Drug Targeting*, 2010, vol. 18, no. 10, pp. 803–811. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2010.521159>
31. Nowacka O., Shcharbin D., Klajnert-Maculewicz B., Bryszewska M. Stabilizing effect of small concentrations of PAMAM dendrimers at the insulin aggregation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, vol. 116, pp. 757–760. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.056>
32. Shcharbin D., Jokiel M., Klajnert B., Bryszewska M. Effect of dendrimers on pure acetylcholinesterase activity and structure. *Bioelectrochemistry*, 2006, vol. 68, no. 1, pp. 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2005.04.001>
33. Shcharbin D., Pedziwiatr-Werbicka E., Vcherashniaya A., Janaszewska A., Marcinkowska M., Goska P. [et al.]. Binding of poly (amidoamine), carbosilane, phosphorus and hybrid dendrimers to thrombin – constants and mechanisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2017, vol. 155, pp. 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.03.053>
34. Shcharbin D., Ionov M., Abashkin V., Loznikova S., Dzmitruk V., Shcharbina N., Matusевич L., Milowska K., Gafęcki K., Wysocki S., Bryszewska M. Nanoparticle corona for proteins: mechanisms of interaction between dendrimers and proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015, vol. 134, pp. 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.07.017>
35. Shcharbin D., Shcharbina N., Milowska K., de la Mata F. J., Muñoz-Fernandez M. A., Mignani S., Gomez-Ramirez R., Majoral J. P., Bryszewska M. Interference of cationic polymeric nanoparticles with clinical chemistry tests – clinical relevance. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, vol. 473, no. 1–2, pp. 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.07.054>
36. Ionov M., Ihnatsyeu-Kachan A., Michlewska S., Shcharbina N., Shcharbin D., Majoral J. P., Bryszewska M. Effect of dendrimers on selected enzymes – Evaluation of nano carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, vol. 499, no. 1–2, pp. 247–254. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.12.056>
37. Szwed A., Milowska K., Ionov M., Shcharbin D., Moreno S., Gomez-Ramirez R., de la Mata F. J., Majoral J. P., Bryszewska M., Gabryelak T. Interaction between dendrimers and regulatory proteins. Comparison of effects of carbosilane and carbosilane-viologen-phosphorus dendrimers. *RSC Advances*, 2016, vol. 6, no. 100, pp. 97546–97554. <https://doi.org/10.1039/C6RA16558C>
38. Ciolkowski M., Rozanek M., Szewczyk M., Klajnert B., & Bryszewska M. The influence of PAMAM-OH dendrimers on the activity of human erythrocytes ATPases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2011, vol. 1808, no. 11, pp. 2714–2723. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.07.021>
39. Ciolkowski M., Rozanek M., Bryszewska M., Klajnert B. The influence of PAMAM dendrimers surface groups on their interaction with porcine pepsin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2013, vol. 1834, no. 10, pp. 1982–1987. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.06.020>
40. Lin J., Hua W., Zhang Y., Li C., Xue W., Yin J., Liu Z., Qiu X. Effect of poly (amidoamine) dendrimers on the structure and activity of immune molecules. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 2015, vol. 1850, no. 2, pp. 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.016>
41. Serchenya T., Shcharbin D., Shyrochyna I., Sviridov O., Terekhova M., Dzmitruk V., Abashkin V., Apartsin E., Mignani S., Majoral J. P., Ionov M., Bryszewska M. Immunoreactivity changes of human serum albumin and alpha-1-microglobulin induced by their interaction with dendrimers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, vol. 179, pp. 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.065>
42. Conde J., Ambrosone A., Sanz V., Hernandez Y., Marchesano V., Tian F., Child H., Berry C. C., Ibarra M. R., Baptista P. V., Tortiglione C., de la Fuente J. M. Design of multifunctional gold nanoparticles for *in vitro* and *in vivo* gene silencing. *ACS Nano*, 2012, vol. 6, no. 9, pp. 8316–8324. <https://doi.org/10.1021/nn3030223>
43. Khlebtsov N., Dykman L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Chemical Society Reviews*, 2011, vol. 40, no. 3, pp. 1647–1671. <https://doi.org/10.1039/C0CS00018C>
44. Krol S., Macrez R., Docagne F., Defer G., Laurent S., Rahman M., Hajipour M. J., Kehoe P. G., Mahmoudi M. Therapeutic benefits from nanoparticles: the potential significance of nanoscience in diseases with compromise to the blood brain barrier. *Chemical Reviews*, 2013, vol. 113, no. 3, pp. 1877–1903. <https://doi.org/10.1021/cr200472g>
45. Pissuwan D., Niidome T., Cortie M. B. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 2011, vol. 149, no. 1, pp. 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.12.006>
46. Peña-González C. E., Pedziwiatr-Werbicka E., Shcharbin D., Guerrero-Beltrán C., Abashkin V., Loznikova S. [et al.]. Gold nanoparticles stabilized by cationic carbosilane dendrons: synthesis and biological properties. *Dalton Transactions*, 2017, vol. 46, no. 27, pp. 8736–8745. <https://doi.org/10.1039/C6DT03791G>
47. Pedziwiatr-Werbicka E., Serchenya T., Shcharbin D., Terekhova M., Prokhira E., Dzmitruk V. [et al.]. Dendronization of gold nanoparticles decreases their effect on human alpha-1-microglobulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 108, pp. 936–941. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.004>
48. Shcharbin D., Pedziwiatr-Werbicka E., Serchenya T., Cyboran-Mikolajczyk S., Prakhira L., Abashkin V. [et al.]. Role of cationic carbosilane dendrons and metallic core of functionalized gold nanoparticles in their interaction with human serum albumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 118, part B, pp. 1773–1780. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.023>
49. Klajnert B., Stanisławska L., Bryszewska M., Pałecz B. Interactions between PAMAM dendrimers and bovine serum albumin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2003, vol. 1648, no. 1–2, pp. 115–126. [https://doi.org/10.1016/S1570-9639\(03\)00117-1](https://doi.org/10.1016/S1570-9639(03)00117-1)

50. Shcharbin D., Janicka M., Wasiak M., Palecz B., Przybyszewska M., Zaborski M., Bryszewska M. Serum albumins have five sites for binding of cationic dendrimers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2007, vol. 1774, no. 7, pp. 946–951. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2007.04.016>

51. Licata N. A., Tkachenko A. V. Kinetic limitations of cooperativity-based drug delivery systems. *Physical Review Letters*, 2008, vol. 100, no. 15, p. 158102. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.158102>

52. Chiba F., Mann G., Twyman L. J. Investigating possible changes in protein structure during dendrimer-protein binding. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 2010, vol. 8, no. 22, pp. 5056–5058. <https://doi.org/10.1039/c0ob00041h>

### Информация об авторах

*Абашкин Виктор Михайлович* – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [viktar.abashkin@gmail.com](mailto:viktar.abashkin@gmail.com)

*Терехова Мария Михайловна* – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [maryterekhova@tut.by](mailto:maryterekhova@tut.by)

*Галец-Буй Инесса Веславовна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [inessahalets@gmail.com](mailto:inessahalets@gmail.com)

*Лозникова Светлана Жоржевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [s\\_loznikova@mail.ru](mailto:s_loznikova@mail.ru)

*Дмитрук Ольга Геннадьевна* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dmitruk.olga@gmail.com](mailto:dmitruk.olga@gmail.com)

*Миловска Катажына* – д-р биол. наук, профессор, ст. преподаватель. Лодзинский университет (141/143, ул. Поморска, 90-236, г. Лодзь, Польша). E-mail: [katarzyna.milowska@biol.uni.lodz.pl](mailto:katarzyna.milowska@biol.uni.lodz.pl)

*Щербин Дмитрий Григорьевич* – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [shcharbin@gmail.com](mailto:shcharbin@gmail.com)

### Information about the authors

*Viktar M. Abashkin* – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [viktar.abashkin@gmail.com](mailto:viktar.abashkin@gmail.com)

*Maria M. Terehova* – 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: [maryterekhova@tut.by](mailto:maryterekhova@tut.by)

*Inessa V. Halets-Bui* – 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: [inessahalets@gmail.com](mailto:inessahalets@gmail.com)

*Svetlana G. Loznikova* – 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: [s\\_loznikova@mail.ru](mailto:s_loznikova@mail.ru)

*Volha G. Dzmitruk* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dmitruk.olga@gmail.com](mailto:dmitruk.olga@gmail.com)

*Katarzyna Milowska* – D. Sc. (Biol.), Professor, Senior Lecturer. University of Lodz (141/143, Pomorska Str., 90-236, Lodz, Poland). E-mail: [katarzyna.milowska@biol.uni.lodz.pl](mailto:katarzyna.milowska@biol.uni.lodz.pl)

*Dzmitry G. Shcharbin* – D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [shcharbin@gmail.com](mailto:shcharbin@gmail.com)

**ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ**  
**SCIENTISTS OF BELARUS**

**АЛЕКСАНДР ВЛАДИМИРОВИЧ КИЛЬЧЕВСКИЙ**  
**(К 65-летию со дня рождения)**



17 августа исполнилось 65 лет известному ученому в области генетики, геномики, биотехнологии и селекции растений, доктору биологических наук, профессору, академику НАН Беларуси Александру Владимировичу Кильчевскому.

Александр Владимирович родился в 1955 г. в г. Горки Могилевской области. С 1977 по 1981 г. после окончания с отличием Белорусской сельскохозяйственной академии он обучался в очной, а затем заочной аспирантуре Института генетики и цитологии АН РБ. Одновременно с 1978 г. работал в Белорусской сельскохозяйственной академии на кафедре плодоовощеводства. В 1982 г. успешно защитил кандидатскую диссертацию по специальности «генетика».

В 1988 г. А. В. Кильчевский возглавил первую в стране кафедру биотехнологии Белорусской государственной сельскохозяйственной академии, созданную при его непосредственном участии.

В этот период он активно занимается разработкой эколого-генетических основ селекции сельскохозяйственных культур, работает над ключевыми проблемами биотехнологии растений, создает крупнейший в Беларуси биотехнологический центр, на базе которого организует широкомасштабное производство оздоровленного посадочного материала растений для хозяйств и населения страны, разрабатывает метод оценки адаптивной способности и экологической стабильности генотипов, среды как фона для отбора. Системное изучение А. В. Кильчевским проблемы взаимодействия генотипа и среды на всех этапах селекции позволило ему обосновать принципы экологической оптимизации селекционного процесса. Под научным руководством А. В. Кильчевского впервые комплексно изучена генетика накопления поллютантов (нитраты, тяжелые металлы, радионуклиды) овощными культурами, показано, что путем отбора генотипов с минимальным выносом поллютантов можно уменьшить их накопление в продукции в 2–5 раз. Изучены генетические основы энергоэффективности сортов, что позволило создать концептуальные модели сортов для технологий различного энерговклада. В области клеточной инженерии проведены исследования по генетике каллусогенеза и регенерации в культуре *in vitro*, выявлены закономерности генетической изменчивости в культуре *in vitro*. Разработаны методы гаметной селекции томата на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, усовершенствованы методы клонального микроразмножения картофеля, голубики высокой, лилий. Разработана система семеноводства гибридов томата на основе функциональной мужской стерильности, снижающая трудовые затраты на производство семян в 10 раз. Полученные результаты были обобщены им в докторской диссертации (1994 г.) и удостоены премии НАН БССР (1999 г.).

В 2003 г. А. В. Кильчевский был избран членом-корреспондентом НАН Беларуси по специальности «биотехнология».

С 2004 по 2014 г. Александр Владимирович Кильчевский возглавлял Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. Под его руководством институт вышел на новый виток развития. Устойчивый переход на молекулярный уровень исследований позволил сконцентрировать научный

потенциал коллектива на современных направлениях генетики, таких как изучение структурно-функциональной организации геномов растений, животных, микроорганизмов и человека с целью исследования генетических процессов регуляции их жизнедеятельности; разработка проблем генетической инженерии; создание эффективных ДНК-технологий для народного хозяйства; изучение проблем биобезопасности. Были существенно расширены работы по маркер-сопутствующей селекции растений и животных, молекулярной генетике человека. Начаты исследования по ряду современных направлений генетики, интенсивно развиваемых в мире, – онкогеномике, этногеномике, геномике спорта.

Являясь директором Института генетики и цитологии НАН Беларуси, А. В. Кильчевский инициировал создание при институте ряда инновационных структур, направленных на внедрение геномных биотехнологий, – Республиканского центра геномных биотехнологий, Республиканского банка ДНК (национальное достояние Республики Беларусь, 2016 г.), центра коллективного пользования «Геном».

В 2004–2020 гг. под его непосредственным научным руководством проводятся исследования по сравнительной геномике пасленовых культур (томат, перец, баклажан, физалис), с использованием современных молекулярно-генетических подходов изучаются генетические основы формирования продуктивности и признаков качества сельскохозяйственных растений (томат, перец, люпин, капуста, кукуруза, пшеница, сахарная свекла, лен, картофель). Разработаны методы маркер-сопутствующей селекции и генетической паспортизации этих культур, которые успешно применяются на практике. С использованием классических и молекулярно-генетических подходов при участии А. В. Кильчевского созданы 53 сорта овощных культур, включенных в Государственный реестр (в том числе 40 – для промышленного овощеводства, 13 – для индивидуальных предпринимателей и овощеводов-любителей).

В последние годы А. В. Кильчевским и его сотрудниками начаты исследования по таким актуальным направлениям, как генетика долголетия и нутригеномика, ведется разработка геномных технологий определения наиболее вероятной внешности неизвестного индивида по образцу его ДНК для целей криминалистики.

Научные труды А. В. Кильчевского широко известны научной общественности как у нас в стране, так и за рубежом. Он является автором более 480 научных работ, в том числе 11 монографий, 4 учебников, 1 патента на изобретение. Александр Владимирович – инициатор, соредактор и соавтор уникальной в СНГ 4-томной монографии «Генетические основы селекции растений» (удостоена премии НАН Беларуси, 2015 г.).

Благодаря активной научно-педагогической деятельности Александром Владимировичем Кильчевским создана научная школа, насчитывающая 4 доктора и 19 кандидатов наук.

Достижения А. В. Кильчевского были высоко оценены руководством страны и научной общественностью. С 2014 г. Александр Владимирович работает в составе Президиума Национальной академии наук Беларуси – сначала в должности главного ученого секретаря (по 2019 г.), затем в должности заместителя Председателя Президиума НАН Беларуси. В 2017 г. он избран академиком НАН Беларуси по специальности «геномика растений».

А. В. Кильчевский ведет большую научно-организационную работу. Он осуществляет научное руководство подпрограммой «Структурная и функциональная геномика» ГПНИ «Биотехнологии», подпрограммой «Инновационные биотехнологии – 2020» ГП «Наукоемкие технологии и техника», научно-технической программой Союзного государства «ДНК-идентификация».

Александр Владимирович является Председателем Белорусского общества генетиков и селекционеров (с 2007 г. по настоящее время), национальным координатором Европейской биотехнологической ассоциации, руководителем Национальной контактной точки по направлению «Пища, сельское хозяйство и биотехнология» в Рамочной программе ЕС, членом Европейского общества генетиков и селекционеров, членом Королевского общества биологов Великобритании, членом редакционных советов ряда журналов («BioDiscovery», «EuroBiotech Journal», «Proceedings of the Latvian Academy of Sciences», «Генетика», «Экологическая генетика», «Вавиловский журнал генетики и селекции» и др.).

За заслуги в области науки, высокий профессионализм и многолетнюю плодотворную деятельность Александр Владимирович Кильчевский награжден медалью Франциска Скорины, почетными грамотами Совета Министров Республики Беларусь, НАН Беларуси, Минсельхозпрода, ВАК, БРФФИ, медалями им. Н. И. Вавилова, С. И. Жегалова. Он является лауреатом премии НАН Беларуси (1999, 2015), отличником образования Республики Беларусь, Почетным профессором Вармийского-Мазурского университета (Польша), Почетным доктором Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. Александру Владимировичу Кильчевскому объявлена благодарность Президента Республики Беларусь и он удостоен персональной надбавки за выдающийся вклад в социально-экономическое развитие Республики Беларусь.

Сердечно поздравляем Александра Владимировича с юбилеем, желаем ему крепкого здоровья, успехов во всех начинаниях и новых свершений на благо биологической науки.

*Отделение биологических наук НАН Беларуси,  
коллектив Института генетики и цитологии НАН Беларуси*