

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2021. Т. 66, № 1

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2021. Т. 66, № 1

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

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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

Главный редактор

Михаил Ефимович Никифоров – 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. 2021. Т. 66, № 1.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

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

Подписано в печать 14.01.2021. Выход в свет 27.01.2021. Формат 60×84^{1/8}. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 80 экз. Заказ 9.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,38 руб., ведомственная подписка – 29,38 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, 2021

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES. 2021, vol. 66, no. 1

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

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Editor-in-Chief

Mikhail E. Nikiforov – 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, 2021, vol. 66, no. 1.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

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

Sent for press 14.01.2021. Output 27.01.2021. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 80 copies. Order 9.
Number price: individual subscription – 12,38 byn., departmental subscription – 29,38 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, 2021

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

ЗМЕСТ

Аверина Н. Г., Дремук И. А., Усатов А. В. Изучение морфометрических и ряда биохимических показателей солеустойчивого пластомного мутанта «SR-3» горчицы и его родительской формы «Донская-5»	7
Гомель К. В., Никифоров М. Е., Шпак А. В., Хейдорова Е. Э., Волнистый А. А. Филогеография и генетическое разнообразие бекаса (<i>Gallinago gallinago</i> Linnaeus, 1758) в Палеарктике по результатам анализа мтДНК (на англ.).....	17
Букляревич А. А., Титок М. А. Молекулярно-генетические маркеры для идентификации природных бактерий рода <i>Rhodococcus</i>	26
Камельчук Я. С., Ламан Н. А. Влияние микоризации регенерантов голубики высокорослой на этапе их адаптации к условиям <i>ex vitro</i> на содержание фосфора в растениях	37
Куделина Т. Н., Кривобок А. С., Бибикова Т. Н., Молчан О. В. Особенности фотоморфогенеза <i>Arabidopsis thaliana</i> в условиях LED-освещения различного спектрального состава	42
Лапука И. И., Вежновец В. В., Шкуте А. А. Таксономическая и пространственная структура зообентоса трансграничного (Беларусь–Латвия) озера Сита.....	53
Липинская Т. П., Мороз М. Д. Аборигенные и чужеродные виды макрозообентоса рек белорусской части Днепровского бассейна	64
Молчан О. В., Зубей Е. С. Влияние фуллерена на физиолого-биохимические параметры растений ячменя в гидропонной культуре	74
Божидай Т. Н., Колбанова Е. В., Кухарчик Н. В. Идентификация и молекулярная характеристика белорусских изолятов фитоплазмы яблони.....	88
Саванец О. Н., Кравченко Е. В., Петров П. Т. Особенности действия анксиолитиков природного и синтетического происхождения на инбредных и аутбредных мышей	98
Сцепановіч І. М., Суднік А. У. Сучасныя структура і стан расліннасці ўздоўж трас прадуктаправодаў і ліній электраперадачы.....	107

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Николай Афанасьевич Ламан (К 80-летию со дня рождения).....	122
Михаил Ефимович Никифоров (К 65-летию со дня рождения)	124
Памяти академика Сергея Васильевича Конева (К 90-летию со дня рождения).....	126

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

CONTENTS

Averina N. G., Dremuk I. A., Usatov A. V. The study of morphometric and the number of biochemical characteristics of the salt-resistant plastomic mutant “SR-3” of mustard plants and its parental variety “Donskaya-5”.....	7
Homel K. V., Nikiforov M. E., Shpak A. V., Kheidorova E. E., Valnisty A. A. Phylogeography and genetic diversity of the common snipe <i>Gallinago gallinago</i> Linnaeus, 1758 in the Palearctic according to the data of the mtDNA.....	17
Bukliarevich H. A., Titok M. A. Molecular-genetic analysis markers for identification of <i>Rhodococcus</i> bacteria species.....	26
Kamelchuk Ya. S., Laman N. A. Influence of mycorrhization of high blueberry regenerants at the stage of their adaptation to <i>ex vitro</i> conditions on phosphorus content in plants	37
Kudelina T. N., Krivobok A. S., Bibikova T. N., Molchan O. V. Features of <i>Arabidopsis thaliana</i> photomorphogenesis when using LED-lighting with different spectral composition	42
Lapuka I. I., Vezhnavevts V. V., Škute A. A. Taxonomic and spatial structure zoobenthos of the transboundary (Belarus–Latvia) lake Sita.....	53
Lipinskaya T. P., Moroz M. D. Native and alien species of macrozoobenthos in rivers of the Belarusian part of the Dnieper River basin.....	64
Molchan O. V., Zubei E. S. The effect of fullerene on the physiological and biochemical parameters of barley plants in hydroponic culture.....	74
Bazhydai T. N., Kolbanova E. V., Kukharchyk N. V. The identification and molecular characteristics of Belarusian apple proliferation phytoplasma isolates.....	88
Savanets O. N., Kravchenko E. V., Petrov P. T. Features of the action of anxiolytics of natural and synthetic origin on inbred and outbred mice	98
Stepanovich I. M., Sudnik A. V. Modern structure and state of vegetation on the routes of pipeline and electric transmission lines.....	107

SCIENTISTS OF BELARUS

Nikolai Afanasievich Laman (To the 80th Anniversary).....	122
Mikhail Efimovich Nikiforov (To the 65th Anniversary)	124
In memory of Academician Sergei Vasilievich Konev (To the 90th Anniversary).....	126

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.3:577.1:631.8
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-7-16>

Поступила в редакцию 03.06.2020
Received 03.06.2020

Н. Г. Аверина¹, И. А. Дремук¹, А. В. Усатов²

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

²Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И РЯДА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОЛЕУСТОЙЧИВОГО ПЛАСТОМНОГО МУТАНТА «SR-3» ГОРЧИЦЫ И ЕГО РОДИТЕЛЬСКОЙ ФОРМЫ «ДОНСКАЯ-5»

Аннотация. Показано, что пластомная мутация, индуцированная нитрозометилмочевинной, приводит к формированию солеустойчивости растений горчицы линии «SR3» по сравнению с родительским сортом «Донская-5», повышает количество проросших семян мутанта и его ростовые показатели как при выращивании на воде, так и при использовании NaCl. При низких и средних концентрациях соли (20, 50 и 100 мМ) наблюдались стимуляция ростовых процессов у обеих форм горчицы, более выраженная у растений мутанта, снижение уровня пролина по сравнению с таковым у растений, выращиваемых на воде, наиболее выраженное у растений линии «SR3», а также более низкое содержание активных форм кислорода у мутанта. Отмечено отрицательное действие более высоких концентраций соли (150, 200 и 250 мМ) на ростовые показатели обеих форм горчицы и меньший негативный эффект на рост растений линии «SR3» при использовании концентрации 150 мМ. Увеличение концентрации соли до 150, 200 и 250 мМ привело также к постепенному возрастанию содержания пролина, особенно у формы «SR3», что в конечном итоге максимально повысило уровень пролина в этом варианте (718 мкг/г свежего веса) и в растениях сорта «Донская-5» (404 мкг/г свежего веса) при использовании концентрации соли 250 мМ. В условиях засоления при 100 и 250 мМ соли способность растений горчицы линии «SR3» накапливать 5-аминолевулиновую кислоту (АЛК) была выше, чем у растений сорта «Донская-5», в 2,6 и 1,5 раза. Отмечена высокая способность растений солеустойчивого мутанта накапливать АЛК и при выращивании в нормальных условиях и в отсутствие NaCl (в 3,8 раза выше, чем у сорта «Донская-5»). Полученные результаты подтверждают выдвинутое ранее предположение о высокой способности растений синтезировать АЛК в нормальных условиях, что может служить показателем их большей стрессоустойчивости.

Ключевые слова: растения горчицы, сорт «Донская-5», пластомный мутант «SR3», солеустойчивость, рост, активные формы кислорода, пролин, 5-аминолевулиновая кислота

Для цитирования: Аверина, Н. Г. Изучение морфометрических и ряда биохимических показателей солеустойчивого пластомного мутанта «SR-3» горчицы и его родительской формы «Донская-5» / Н. Г. Аверина, И. А. Дремук, А. В. Усатов // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 7–16. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-7-16>

Natalia G. Averina¹, Irina A. Dremuk¹, Alexandr V. Usatov²

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

²Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

THE STUDY OF MORPHOMETRIC AND THE NUMBER OF BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE SALT-RESISTANT PLASTOMIC MUTANT “SR-3” OF MUSTARD PLANTS AND ITS PARENTAL VARIETY “DONSKAYA-5”

Abstract. It was shown that the plastome mutation induced by nitrosomethylurea and resulting in the formation of salt tolerant mustard plants of the “SR3” line improved the germination of the mutant seeds and seedlings growth both under water conditions and NaCl salinisation compared to the parent variety “Donskaya-5”. At low and medium salt concentrations (20, 50 and 100 mM) stimulation of seedling growth was noted in both forms of mustard, more pronounced in mutant plants which also contained a lower amount of reactive oxygen species compared to “Donskaya-5”. In this conditions in both forms of plants it was detected a significant decrease of proline content in comparison with seedlings grown on water with the most difference between control and experimental plants of the line SR3. It was noted a negative effect of higher salt concentrations (150, 200, and 250 mM) on the seedlings growth of both mustard forms with a lesser negative effect of 150 mM salt on the growth of mutant plants. An increase in the salt concentration to 150, 200 and 250 mM NaCl led also to a gradual increase in the proline content, which occurs at a faster rate in the plants of “SR3” line, and ultimately led to a maximum proline content in this variant (718 µg/g of fresh weight) and 404 µg/g of fresh weight in plants of the cultivar “Donskaya-5” at 250 mM NaCl. Under salinization with 100 and 250 mM salt, the ability of SR3 mustard plants to accumulate ALA was significantly higher

than in “Donskaya-5” plants by 2.6 and 1.5 times respectively. A high ability of the salt tolerant mutant plants to accumulate ALA was also noted when seedlings were grown under normal conditions in the absence of NaCl (3.8 times higher than in the case of the “Donskaya-5” variety). This supports our earlier assumption that high ability of plants to produce ALA under normal conditions may serve as an indicator of their high stress resistance when exposed to stress.

Keywords: mustard plants, variety “Donskaya-5”, plastome mutant “SR3”, salt tolerance, growth, reactive oxygen species, proline, 5-aminolevulinic acid

For citation: Averina N. G., Dremuk I. A., Usatov A. V. The study of morphometric and the number of biochemical characteristics of the salt-resistant plastomic mutant “SR-3” of mustard plants and its parental variety “Donskaya-5”. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 7–16 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-7-16>

Введение. Засоление является одним из факторов окружающей среды, который в значительной степени ограничивает рост и развитие растений, приводя в конечном итоге к снижению их продуктивности и даже к гибели. В последнее время в мире отмечается расширение масштабов почвенного засоления. Число генотипов хозяйственно полезных растений, способных расти на засоленных почвах, невелико. Генетические подходы к созданию высокоустойчивых к засолению сортов и гибридов сельскохозяйственных растений являются наиболее перспективными. Идентификация новых чувствительных к солевому стрессу генов и создание с их использованием трансгенных растений практикуется во многих лабораториях мира [1–3]. Многочисленные исследования привели к представлению о генетическом многообразии ответа организма на солевой стресс на уровне единичной клетки [4, 5], что потребовало освоения методов мультигенного переноса. В то же время манипуляции со многими генами возможны только после изучения специфичности сигнальных путей, которые отвечают за экспрессию генов, определяющих соле-толерантность растений.

Еще одним подходом к решению проблемы эффективного освоения засоленных земель является целенаправленная селекция с целью создания высокоустойчивых к засолению сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. Первым шагом в этом направлении является получение солеустойчивых форм как исходного генетического материала для дальнейшей селекционной работы.

В настоящее время существует несколько способов получения солеустойчивых форм растений. Прежде всего это выделение галорезистентных экземпляров из сортовой популяции. Однако количество устойчивых растений в данном случае невелико, что отражает частоту спонтанной изменчивости. Неоднократно предпринимались попытки передать повышенную солеустойчивость диких форм культурным сортам при гибридизации, но в результате у полученных гибридов довольно часто ухудшался комплекс хозяйственно ценных признаков.

Устойчивые к засолению линии могут быть получены при помощи клеточной селекции. Однако до сих пор существуют определенные трудности в получении регенерантов из каллусной ткани ряда культур. Наряду с этим при регенерации растений из растущих в условиях засоления каллусов могут проявляться признаки химерности, что в свою очередь не гарантирует сохранения признака солеустойчивости в последующих поколениях.

Мощным инструментом, повышающим частоту наследственной изменчивости, является индуцированный мутагенез. В лаборатории генетики растений НИИ биологии Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону) с помощью индуцированного нитрозометилмочевинной мутагенеза получены не имеющие хлорофильных дефектов солеустойчивые формы пластомных мутантов горчицы, которые могут быть использованы в качестве исходного генетического материала для дальнейшей селекции, направленной на создание солеустойчивых форм. Повышенная солеустойчивость (Salt Resistance, “SR”) SR-линий проявилась в том, что в условиях 1 %-ного и 1,2 %-ного засоления NaCl они формируют более высокий урожай по сравнению с исходным сортом «Донская-5», выросшим на воде [6]. Масса семян одного растения у форм «SR2» и «SR3», выросших в условиях 1,2 %-ного засоления, достоверно превышала этот показатель у сортовых растений – на 30,4 и 63,4 % соответственно. В этих же условиях уровень первичных продуктов фотосинтеза – редуцирующих сахаров в солеустойчивых формах был выше (на 11 и 69 % соот-

ветственно), чем в листьях родительской формы, что, с одной стороны, характеризует активность фотосинтеза у мутантов, а с другой – выполнение ими защитных осмопротекторных функций. Были отмечены и изменения в пространственной организации хлоропластов «SR»-форм по сравнению с сортом «Донская-5» на ультраструктурном уровне – снижение числа тилакоидов в грани и их равномерное распределение по всей площади среза хлоропласта, а также большая стабильность структуры хлоропласта в условиях засоления. Проведенное исследование генотипов солеустойчивых линий горчицы «SR2», «SR3» и сорта «Донская-5» с помощью RAPD-анализа обнаружило также генетические различия между линиями и сортом, а также между самими солеустойчивыми линиями [7]. Эти исследования показали, что создание галорезистентных пластомных мутантов сельскохозяйственных культур, выявление механизмов, участвующих в формировании солеустойчивости таких растений, является актуальной и перспективной задачей.

Цель работы – изучить ряд морфометрических, а также важнейших биохимических показателей, характеризующих, в частности, общее содержание активных форм кислорода, способность растений к синтезу ключевого предшественника хлорофилла и гема, регулятора роста растений и антистрессора – 5-аминолевулиновой кислоты, а также универсального антистрессора пролина, содержание которых характеризует состояние защитной системы растений в условиях засоления, создаваемого разными концентрациями NaCl.

Материалы и методы исследования. Для изучения роли пластома в формировании растений, устойчивых к засолению почв, нами использованы родительский сорт горчицы «Донская-5» и наиболее устойчивый к засолению пластомный мутант «SR3». Семена растений горчицы проращивали в чашках Петри на смоченной водой или растворами NaCl фильтровальной бумаге и выращивали до 7-дневного возраста в режиме 14 ч света – 10 ч темноты. Для освещения применяли люминесцентные лампы Philips TD-36/765 (66,2 мкмоль фотонов/м²·с). Для анализа использовали семядольные листья.

Для определения активности системы синтеза 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) срезанные листья инкубировали 6 ч на свету на 0,05 М растворе АЛК в 0,1 М Трис-НСl буфере (pH 6,5), после чего фиксировали паром и извлекали из них АЛК. Для определения количества АЛК навеску листьев гомогенизировали в 2 мл 5 %-ной трихлоруксусной кислоты, затем гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 6000 g. Супернатант сливали, оставшийся осадок гомогенизировали в 2 мл ацетатного буфера (pH 4,6) и вновь центрифугировали 10 мин при 6000 g. Супернатанты объединяли, добавляли ацетилацетон (3 капли на 2 мл супернатанта), перемешивали и нагревали при $t = 100$ °С в течение 15 мин. После охлаждения раствора к нему приливали равный объем модифицированного реагента Эрлиха и через 15 мин определяли оптическую плотность раствора при 553 нм. Количество АЛК рассчитывали с помощью молярного коэффициента экстинкции $6 \cdot 10^4$ М⁻¹·см⁻¹ [8].

Для определения общего содержания АФК использовали флуоресцентный тест, в основе которого лежит образование дихлорфлуоресцеина (ДХФ) из нефлуоресцирующего ДХФ-диацетата в полученных с помощью 0,2 н HClO₄ экстрактах из листьев [9]. Флуоресценцию ДХФ регистрировали на спектрофлуориметре (Solar, Беларусь). Длины волн возбуждения и регистрации флуоресценции составляли 496 и 524 нм соответственно. Тест не является специфическим по отношению к какой-либо одной АФК. С его помощью, как правило, по количеству образовавшегося ДХФ определяют суммарное содержание АФК. Содержание ДХФ рассчитывали по калибровочной кривой.

Для определения содержания пролина навеску листьев горчицы (0,1 г) фиксировали жидким азотом, растирали в 1 мл 3 %-ной сульфосалициловой кислоты и центрифугировали 10 мин при 18 000 g. К супернатанту (0,25 мл) добавляли равные объемы ледяной уксусной кислоты и кислотоингибиторного реагента (0,25 г нингидрина в 10 мл раствора, содержащего ледяную уксусную кислоту, дистиллированную воду и 85 %-ную ортофосфорную кислоту в соотношении 6:3:1). Пробы инкубировали 1 ч при 90 °С, затем охлаждали до комнатной температуры и измеряли оптическую плотность при 515 нм [10]. Количество пролина рассчитывали в мкг/г сырой массы, используя калибровочную кривую.

Статистическая обработка экспериментальных данных состояла в определении средней квадратичной ошибки их среднего арифметического.

Результаты и их обсуждение. Прежде всего определяли количество проросших семян сорта «Донская-5» и мутанта «SR3» на 2-й и 3-й день их выращивания на воде. На рис. 1 видно, что количество проросших семян у солеустойчивой линии несколько больше, чем у сортовой горчицы. Так, на 2-й день замачивания семян у сорта «Донская-5» и линии «SR3» проросло 67 и 87 % семян соответственно, на 3-й день – 83 и 91 %. При засолении с использованием концентраций 170 и 200 мМ количество проросших семян снижалось у обоих типов растений, но оставалось более высоким у формы «SR3» по сравнению с сортом «Донская-5» – 85 и 68 % (на 3-й день прорастания – 78 и 61 % соответственно).

На рис. 2 видно, что при выращивании растений обеих форм на воде высота растений линии «SR3» превышает (в среднем на 22 %) высоту растений сорта «Донская-5». При засолении с использованием концентраций 20, 50 и 100 мМ NaCl наблюдали отчетливую стимуляцию ростовых процессов у растений обеих форм, наиболее выраженную у линии «SR3».

Наибольший эффект наблюдали при концентрации соли 20 мМ: у «Донской-5» и «SR3» – 152 и 170 % соответственно по сравнению с таковой у растений этих форм, выращенных на воде. Максимальную стимуляцию ростовых процессов наблюдали у линии «SR3». Высота растений этой формы была выше, чем у растений сорта «Донская-5», на 36, 24 и 13 % при концентрациях соли 20, 50 и 100 мМ соответственно. Незначительную стимуляцию роста растений мутанта (на 8 % по сравнению с горчицей сорта «Донская-5») наблюдали и при концентрации соли 200 мМ, хотя в отдельных опытах с этой концентрацией соли стимулирующее действие мутации проявлялось достаточно отчетливо (рис. 3). В этих случаях у растений «SR3» визуально была отмечена и более зеленая окраска листьев, чем у сорта «Донская -5».

Стимуляция роста растений в условиях низкого и среднего уровней засоления, по-видимому, связана с накоплением ионов Na^+ и Cl^- , которые, выступая в качестве питательных субстратов, способствуют росту клеток путем их растяжения [11], а также с функционированием защитных механизмов. Вместе с тем отрицательное действие высоких концентраций соли (150, 200 и 250 мМ) на ростовые показатели обеих форм горчицы может быть обусловлено ингибированием активности целого ряда ферментов [11].

Пролин является обязательным компонентом растительной клетки, и его содержание в ней зависит от стадии развития, вида и органа растения. В условиях стресса содержание свободного пролина многократно возрастает, и в настоящее время он рассматривается как универсальный

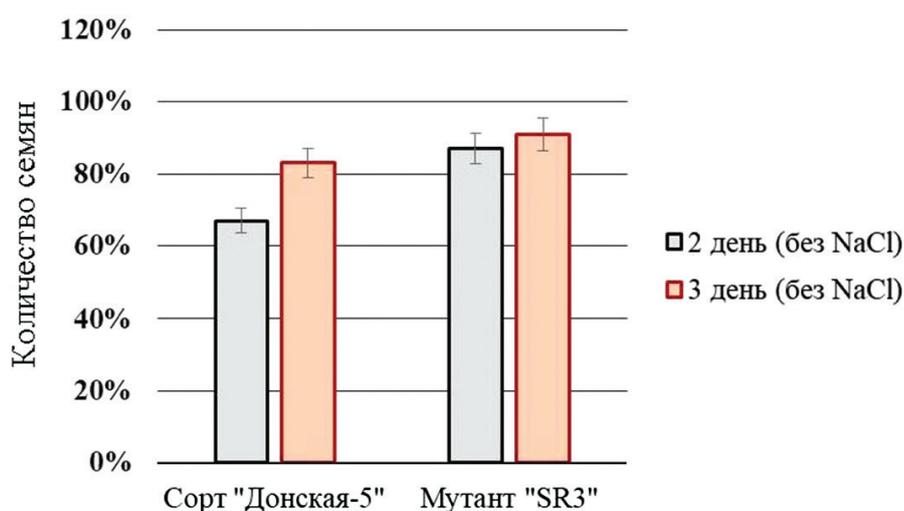


Рис. 1. Количество проросших семян растений горчицы сорта «Донская-5» и солеустойчивого пластомного мутанта «SR3» на 2-й и 3-й день при их выращивании на воде

Fig. 1. The germination of mustard plant seeds of the variety “Donskaya-5” and salt-tolerant plastome mutant “SR3” located on the water surface for 2 and 3 days

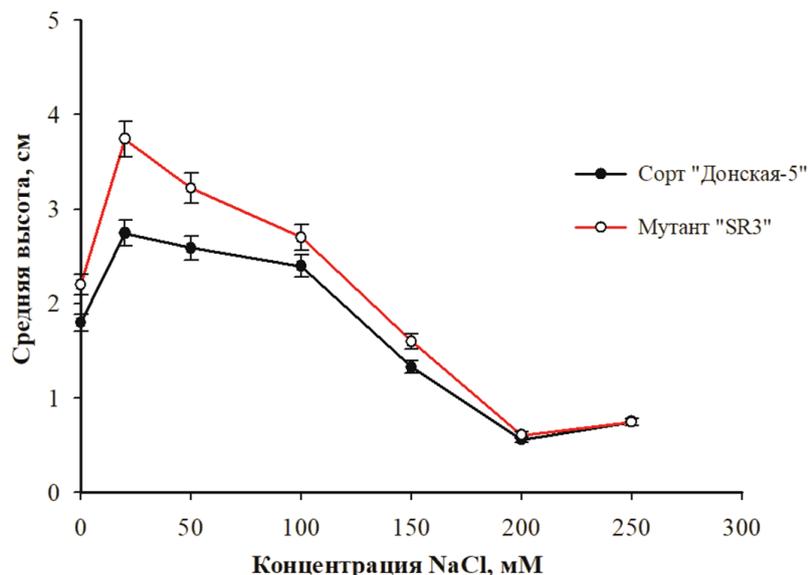


Рис. 2. Средняя высота 7-дневных растений сорта «Донская-5» и солеустойчивого пластомного мутанта «SR3», выращенных на растворах NaCl разных концентраций
 Fig. 2. The average height of 7-day-old plants of the “Donskaya-5” variety and salt-tolerant plastome mutant “SR3” grown on NaCl solutions of different concentrations



Рис. 3. Внешний вид 7-дневных растений горчицы сорта «Донская-5» и солеустойчивого пластомного мутанта линии «SR3» (на рисунке S-3), выращенных на 200 мМ растворе NaCl

Fig. 3. Appearance of 7-day-old mustard plants of the “Donskaya-5” variety and the salt tolerant plastome mutant of the “SR3” line (in Figure S-3) grown on 200 mM NaCl solution

антистрессор, выполняющий целый ряд защитных функций [12, 13]. Его накопление зарегистрировано в условиях засухи, засоления, экстремальных температур, УФ-радиации, вечной мерзлоты, а также при корневой гипоксии, затоплении, загрязнении тяжелыми металлами и гербицидами [12, 13]. Нами проанализирована динамика изменения содержания пролина в проростках горчицы сорта «Донская-5» и ее солеустойчивой линии «SR3» при их выращивании на растворах разных концентраций NaCl.

При выращивании растений на воде отмечено незначительно большее содержание пролина у солеустойчивой горчицы по сравнению с сортовой – 222 мкг/г сырой массы пролина у «SR3» и 194 мкг/г у растений сорта «Донская-5». При низких и средних концентрациях соли (20, 50 и 100 мМ) наблюдали падение уровня пролина в растениях обеих форм по сравнению с соответствующими контролями (рис. 4).

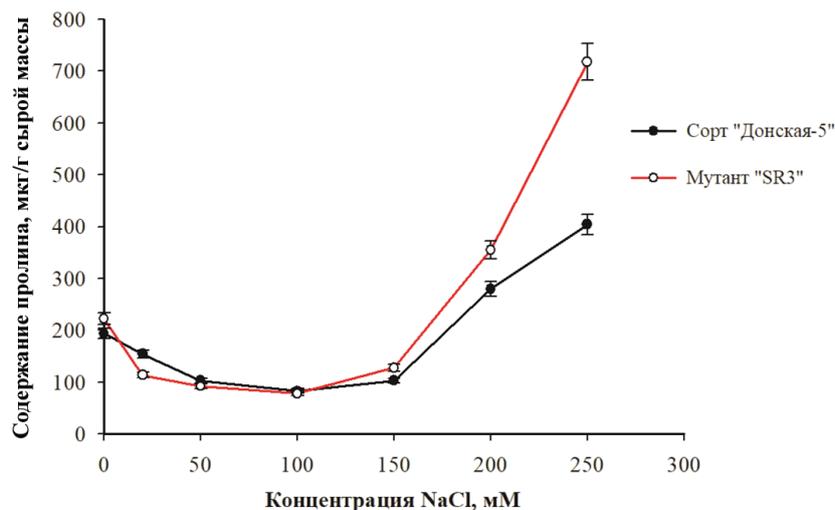


Рис. 4. Изменение содержания пролина в 7-дневных проростках горчицы сорта «Донская-5» и пластомного мутанта «SR3», выращенных при разных концентрациях NaCl

Fig. 4. Change in the content of proline in 7-day-old seedlings of mustard variety “Donskaya-5” and plastome mutant “SR3” grown at different concentrations of NaCl

Так, при концентрации NaCl 100 мМ отмечено самое низкое содержание пролина: у растений сорта «Донская-5» – в среднем 43 % от его содержания в растениях, выращенных на воде; у формы «SR3» – 35 %. Последующее увеличение концентрации соли (150, 200 и 250 мМ) способствовало постепенному нарастанию содержания пролина, наиболее выраженному у формы «SR3», что в конечном итоге привело к максимальному содержанию пролина при использовании 250 мМ соли (323 % от контроля и 177 % по сравнению содержанием пролина в растениях сорта «Донская-5», рис. 4). Следует отметить, что в условиях засоления периода снижения содержания антистрессорной аминокислоты соответствует период стимуляции роста растений, что может свидетельствовать о благополучном антистрессовом состоянии растений [11].

Процесс фотосинтеза в растительных организмах сопровождается образованием молекулярного кислорода (O_2), необходимого для нормального функционирования биологических систем, который, однако, несет потенциальную угрозу в виде развития в клетках фотодеструктивных процессов, вызываемых образованием АФК, таких как молекулярный синглетный кислород (1O_2), супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), пероксид водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал ($\cdot OH$) и др. [14]. В стрессовых условиях образование АФК усиливается, что в ряде случаев приводит к усилению деструктивных процессов в растениях и даже к гибели наиболее чувствительных видов. В частности, солевой стресс, как и другие абиотические факторы, приводит к многократному увеличению в клетках уровня АФК, таких как $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 и $\cdot OH$ [15, 16].

Нами был проанализирован общий уровень АФК как показатель степени окисленности растительных клеток в условиях засоления. На рис. 5 видно, что снижение содержания пролина (см. рис. 4) привело к росту содержания АФК как в сортовых растениях горчицы «Донская-5», так и в растениях линии «SR3». Максимальное (практически двукратное) содержание АФК наблюдали при использовании 50 и 100 мМ соли, что соответствовало самому низкому содержанию пролина в растениях (рис. 4). При концентрации NaCl 150 мМ, когда отмечалось возрастание содержания пролина, уровень АФК снижался примерно до уровня контрольных растений, а при последующем возрастании концентрации соли окислительный гомеостаз растений поддерживался примерно на одном и том же уровне, незначительно более высоком, чем в контрольных образцах, что может свидетельствовать об адаптации растений к данному уровню засоления.

В высших растениях синтез первого специфического предшественника тетрапирролов, АЛК, является наиболее чувствительным и лимитирующим звеном в образовании хлорофиллов и гема. Активность этого участка пути контролируется как эндогенными, так и экзогенными факторами. Использование экзогенной АЛК позволило выявить ее роль как регулятора роста растений,

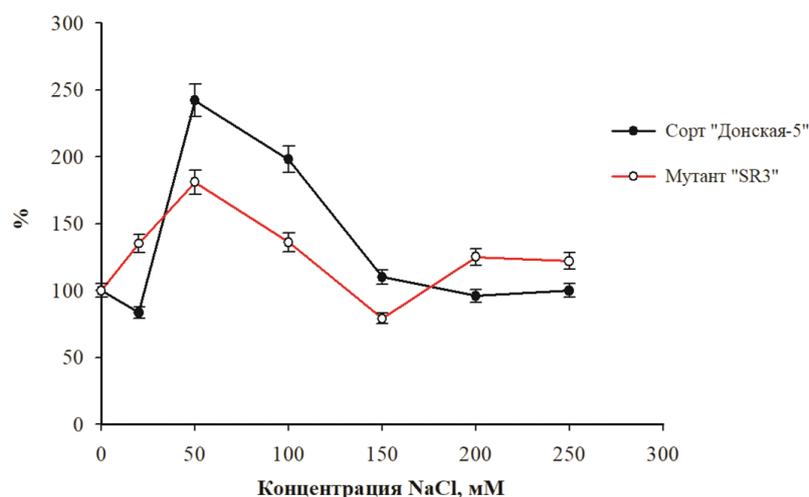


Рис. 5. Изменение содержания АФК в 7-дневных растениях горчицы сорта «Донская-5» и солеустойчивом пластомном мутанте «SR3», выращенных при разных концентрациях NaCl. За 100 % принято содержание АФК в растениях обоих вариантов, выращенных на воде

Fig. 5. Change in the content of reactive oxygen species (ROS) in 7-day-old mustard plants of the “Donskaya-5” variety and the salt-tolerant plasmome mutant “SR3” grown at different NaCl concentrations. The content of ROS in plants of both varieties grown on water is taken as 100 %

усиливающего накопление эндогенных цитокининов [17], а также как антистрессорного агента, повышающего устойчивость растений к целому ряду стрессоров [18]. В частности, экзогенная АЛК индуцировала солеустойчивость растений ячменя путем стимуляции накопления пролина и активации метаболизма азота через повышение активности нитратредуктазы и усиление экспрессии *Nar-1* гена фермента [19, 20].

Наряду с этим нами было показано, что у солеустойчивого сорта сорго (*Sorghum*) Ефремовская-2А, выращенного на воде, способность накапливать АЛК была более чем в 2 раза выше, чем у чувствительного к засолению сорта Сарваш [18]. Было выдвинуто предположение, что способность растений синтезировать АЛК в нормальных условиях может служить важным биохимическим показателем их стрессоустойчивости. С целью проверки этого предположения нами изучено накопление АЛК в устойчивых и чувствительных к засолению растениях горчицы при их выращивании на воде, а также на поверхности растворов при концентрациях соли 100 и 250 мМ.

Показано, что как при выращивании растений на воде, так и при использовании указанных концентраций соли способность растений горчицы линии «SR3» накапливать АЛК была выше, чем у растений сорта «Донская-5». Так, при выращивании на воде эта разница составила 280 %, а при использовании растворов соли в концентрации 100 и 250 мМ разница между растениями линии «SR3» и сортом «Донская-5» в способности накапливать АЛК составила 160 и 50 % соответственно. По-видимому, более низкий уровень активных форм кислорода и большая активность в растениях мутанта синтеза эндогенной АЛК, обладающей функциями регулятора роста растений и антистрессора, создают предпосылки для большей солеустойчивости таких растений, проявившейся в стимуляции ростовых процессов (см. рис. 2, 3). Ранее стимуляция накопления эндогенной АЛК была отмечена в этиолированных и зеленых проростках ячменя, этиолированных семядольных листьях огурца, а также в альбино-ткани выращенных на свету проростков ячменя, обработанных на стадии семян антибиотиком стрептомицином, при их выращивании с использованием низких и средних концентраций NaCl [18], что может быть первичной реакцией растений на стресс с целью защитить два важнейших энергетических процесса – фотосинтез и дыхание. В норме при выращивании растений на воде способность солеустойчивого мутанта «SR3» образовывать АЛК также значительно (в 3,8 раза) превышала таковую в растениях сортовой горчицы, что подтверждает предположение о способности растений синтезировать АЛК в нормальных условиях. Это может служить важным биохимическим показателем их стрессоустойчивости [18].

Поскольку и АЛК, и пролин синтезируются из общего предшественника – глутаминовой кислоты, их роль как антистрессоров может быть взаимозаменяемой в разные периоды вегетации и в разных условиях существования растений. В работе [21] показано, что при добавлении KNO_3 в раствор для выращивания проростков ячменя с целью повышения активности нитратредуктазы, способствующей ассимиляции неорганического азота и его усвоению в виде дополнительных количеств АЛК, пролина и белковых аминокислот, наблюдается увеличение содержания эндогенной АЛК, усиление роста растений и снижение уровня пролина за счет ингибирования активности пирролин-5-карбоксилазы. Чрезвычайно высокий уровень АЛК в растениях солеустойчивого мутанта при среднем уровне засоления (260 % по сравнению с сортовыми растениями при концентрации соли 100 мМ) соответствовали чрезвычайно низкому содержанию пролина у растений линии «SR3» (водного контроля) и стимуляции роста растений мутанта. При более высоких концентрациях соли, когда ингибируется активность многих ферментов [11], в том числе участвующих в синтезе АЛК и тетрапирролов [19], глутаминовая кислота начинает преимущественно усваиваться системой синтеза пролина, что приводит к его накоплению и повышению стрессоустойчивости растений (см. рис. 4) [18–20]. Стимуляция роста растений мутанта при выращивании на воде, а также при средних концентрациях соли (100 мМ), когда уровень АЛК значительно превышал таковой в растениях сорта «Донская-5», а содержание пролина, напротив, было либо практически одинаковым, либо значительно более низким, может указывать на большую активность АЛК как антистрессора растений по сравнению с пролином, что также требует дополнительных исследований.

Заключение. Таким образом, показано, что по сравнению с родительским сортом «Донская-5» пластовая мутация, индуцированная нитрозометилмочевинной, приводит к формированию солеустойчивости растений горчицы линии «SR3», повышает количество проросших семян мутанта, а также улучшает его ростовые характеристики как при выращивании на воде, так и при использовании NaCl. При низких и средних концентрациях соли (20, 50 и 100 мМ) отмечались стимуляция ростовых процессов у обеих форм горчицы, более выраженная у растений мутанта, снижение уровня пролина по сравнению с таковым у растений, выращиваемых на воде, особенно у растений линии «SR3», а также более низкое содержание АФК у мутанта. Выявлено отрицательное действие более высоких концентраций соли (150, 200 и 250 мМ) на ростовые показатели обеих форм горчицы и меньший негативный эффект на рост растений линии «SR3» при использовании концентрации 150 мМ. Увеличение концентрации соли до 150, 200 и 250 мМ привело также к постепенному возрастанию содержания пролина, наиболее выраженному у формы «SR3», что в конечном итоге максимально повысило уровень пролина по сравнению с водным контролем и растениями сорта «Донская-5». В условиях засоления при концентрации соли 100 и 250 мМ способность растений горчицы линии «SR3» накапливать АЛК была существенно выше, чем у растений сорта «Донская-5». Наряду с этим отмечалась высокая способность растений солеустойчивого мутанта накапливать АЛК и при выращивании в нормальных условиях на воде (в 3,8 раза выше, чем у сорта «Донская-5»). Полученные результаты подкрепляют выдвинутое ранее предположение о высокой способности растений производить АЛК в нормальных условиях. Это может служить важным биохимическим показателем их большей стрессоустойчивости и, несомненно, требует дополнительных исследований.

Список использованных источников

1. Expression studies in tetrapyrrole biosynthesis. Inverse maxima of magnesium chelatase and ferrochelatase activity during cyclic photoperiods / J. Papenbrock [et al.] // *Planta*. – 1999. – Vol. 208, N 2. – P. 264–273. <https://doi.org/10.1007/s004250050558>
2. Сопори, С. К. Влияние света и абиотических стрессовых факторов на экспрессию генов растений. Генетические подходы к созданию растений, устойчивых к засолению почвы / С. К. Сопори // *Фотобиология растений и фотосинтез* / отв. ред. И. Д. Волоотовский. – Минск, 2008. – С. 29–65. – (Годневские чтения ; 14).
3. Parida, A. K. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review / A. K. Parida, A. B. Das // *Ecotoxicol. Environ. Safety*. – 2005. – Vol. 60, N 3. – P. 324–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
4. Ingram, J. The molecular basis of cellular dehydration tolerance in plants / J. Ingram, D. Bartels // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1996. – Vol. 47, N 1. – P. 377–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377>

5. Bray, E. A. Plant responses to water deficit / E. A. Bray // *Trends Plant Sci.* – 1997. – Vol. 2, N 2. – P. 48–54. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(97\)82562-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(97)82562-9)
6. Ультраструктура хлоропластов горчицы *Brassica juncea* как показатель солерезистентности / А. И. Усатов [и др.] // *Цитология.* – 2004. – Т. 46, № 12. – С. 1035–1042.
7. Маркин, Н. В. RAPD-анализ генотипов солеустойчивых форм горчицы *Brassica juncea* L. / Н. В. Маркин, А. В. Усатов, Г. М. Федоренко // *Экол. вестн. науч. центров Черномор. экон. содружества.* – 2006. – № 3. – С. 99–192.
8. Shemin, D. Delta-aminolevulinic acid dehydrase from *Rhodospseudomonas spheroides* / D. Shemin // *Meth. Enzymol.* – 1962. – Vol. 5. – P. 883–884. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(62\)05333-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(62)05333-1)
9. Soliman, E. F. Manganese-induced oxidative stress as measured by a fluorescent probe: an *in vitro* study / E. F. Soliman, W. Jr. Slikker, S. F. Ali // *Neurosci. Res. Commun.* – 1995. – Vol. 17, N 3. – P. 185–193.
10. Misra, N. Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram / N. Misra, A. K. Gupta // *Plant Sci.* – 2005. – Vol. 169, N 2. – P. 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.013>
11. Землянухина, О. А. Рост и развитие растений вейгелы цветущей «Вариегата» в культуре *in vitro* в условиях солевого стресса / О. А. Землянухина, В. Н. Калаев, В. С. Воронина // *Современные проблемы науки и образования* [Электронный ресурс]. – 2016. – № 6. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26019>. – Дата доступа: 31.03.2020.
12. Кузнецов, Вл. В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / Вл. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // *Физиология растений.* – 1999. – Т. 46. – С. 321–336.
13. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance / P. V. K. Kishor [et al.] // *Curr. Sci.* – 2005. – Vol. 88. – P. 424–438.
14. Foyer, C. H. Photooxidative stress in plants // C. H. Foyer, M. Lelandais, K. J. Kunert // *Physiol. Plantarum.* – 1994. – Vol. 92, N 4. – P. 696–717. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1994.920422.x>
15. Meneguzzo, S. Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations / S. Meneguzzo, F. Navari-Izzo, R. Izzo // *J. Plant. Physiol.* – 1999. – Vol. 155. – P. 274–280. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(99\)80019-4](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(99)80019-4)
16. Полесская, О. Г. Влияние солевого стресса на антиоксидантную систему растений в зависимости от условий азотного питания / О. Г. Полесская, Е. К. Каширина, Н. Д. Алехина // *Физиология растений.* – 2006. – Т. 53. – С. 207–214.
17. Яронская, Е. Б. Содержание зеатина и его производных в проростках ячменя (*Hordeum vulgare* L.) с повышенным уровнем 5-аминолевулиновой кислоты / Е. Б. Яронская, И. В. Вершиловская, Н. Г. Аверина // *Вестн. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2004. – № 3. – С. 70–73.
18. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 413 с.
19. Аверина, Н. Г. Механизмы устойчивости растений ячменя к солевому стрессу под действием 5-аминолевулиновой кислоты / Н. Г. Аверина, Е. Р. Грицкевич // *Физиология растений.* – 2010. – Т. 57. – С. 849–846.
20. Аверина, Н. Г. Молекулярные механизмы регуляции нитратредуктазы экзогенной 5-аминолевулиновой кислотой в проростках ячменя, выращенных в условиях засоления хлоридом натрия / Н. Г. Аверина, З. Бейзаи, Р. А. Щербаков // *Докл. Нац. акад. наук Беларусі.* – 2015. – Т. 59, № 4. – С. 95–101.
21. Роль метаболизма азота в формировании солеустойчивости растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum*) / Н. Г. Аверина [и др.] // *Физиология растений.* – 2014. – Т. 61. – С. 106–113.

References

1. Papenbrock J., Mock H.-P., Kruse E., Grimm B. Expression studies in tetrapyrrole biosynthesis. Inverse maxima of magnesium chelatase and ferrochelatase activity during cyclic photoperiods. *Planta*, 1999, vol. 208, no. 2, pp. 264–273. <https://doi.org/10.1007/s004250050558>
2. Sopori S. K. The influence of light and abiotic stress factors on the expression of plant genes. Genetic approaches to creating plants resistant to soil salinization. *Fotobiologiya rastenii i fotosintez* [Plant photobiology and photosynthesis]. Minsk, 2004, pp. 29–65 (in Russian).
3. Parida A. K., Das A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, vol. 60, no. 3, pp. 324–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
4. Ingram J., Bartels D. The molecular basis of cellular dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, vol. 47, no. 1, pp. 377–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377>
5. Bray E. A. Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, 1997, vol. 2, no. 2, pp. 48–54. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(97\)82562-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(97)82562-9)
6. Usatov A. I., Fedorenko G. M., Shcherbakova L. B., Mashkina E. V. Ultrastructure of chloroplasts of mustard *Brassica juncea* as an indicator of salt resistance. *Tsitologiya* [Cytology], 2004, vol. 46, no. 12, pp. 1035–1042 (in Russian).
7. Markin N. V., Usatov A. I., Fedorenko G. M. RAPD analysis of the genotypes of salt-resistant forms of mustard *Brassica juncea* L. *Ekologicheskii vestnik nauchnykh tsentrov Chernomorskogo ekonomicheskogo sotrudnichestva* [Ecological bulletin of scientific centers of the Black Sea Economic Commonwealth], 2006, no. 3, pp. 99–192 (in Russian).
8. Shemin D. Delta-aminolevulinic acid dehydrase from *Rhodospseudomonas spheroides*. *Methods in Enzymology*, 1962, vol. 5, pp. 883–884. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(62\)05333-1](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(62)05333-1)
9. Soliman E. F., W. Jr. Slikker, S. F. Ali. Manganese-induced oxidative stress as measured by a fluorescent probe: an *in vitro* study. *Neuroscience Research Communications*, 1995, vol. 17, no. 3, pp. 185–193.

10. Misra N., Gupta A. K. Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Science*, 2005, vol. 169, no. 2, pp. 331–339. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.013>
11. Zemlyanukhina O. A., Kalayev V. N., Voronina V. S. Growth and development of weigela plants of the blooming “Variegat” in an *in vitro* culture under conditions of salt stress. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 2016, no. 6. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26019> (accessed 31.03.2020) (in Russian).
12. Kuznetsov V. I., Shevyakova N. I. Proline under stress: biological role, metabolism, regulation. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 1999, vol. 46, pp. 321–336 (in Russian).
13. Kishor P. V. K., Sangam S., Amrutha R. N., Laxmi P. S., Naidu K. R., Rao K. R. S. S., Rao S., Reddy K. J., Theriappan P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 2005, vol. 88, pp. 424–438.
14. Foyer C. H., Lelandais M., Kunert K. J. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 1994, vol. 92, no. 4, pp. 696–717. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1994.920422.x>
15. Meneguzzo S., Navari-Izzo F., Izzo R. Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations. *Journal of Plant Physiology*, 1999, vol. 155, no. 2, pp. 274–280. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(99\)80019-4](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(99)80019-4)
16. Poleskaya O. G., Kashirina E. K., Alekhina N. D. The influence of salt stress on the antioxidant system of plants depending on the conditions of nitrogen nutrition. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 2006, vol. 53, pp. 207–214 (in Russian).
17. Yaronskaya E. B., Vershilovskaya I. V., Averina N. G. The content of zeatin and its derivatives in seedlings of barley (*Hordeum vulgare* L.) with an elevated level of 5-aminolevulinic acid. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2004, no. 3, pp. 70–73 (in Russian).
18. Averina N. G., Yaronskaya E. B. *Biosynthesis of tetrapyrroles in plants*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 413 p. (in Russian).
19. Averina N. G., Gritskevich E. R. Mechanisms of resistance of barley plants to salt stress under the action of 5-aminolevulinic acid. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 2010, vol. 57, pp. 849–846 (in Russian).
20. Averina N. G., Beizai Z., Shcherbakov R. A. Molecular mechanisms of nitrate reductase regulation by exogenous 5-aminolevulinic acid in barley seedlings grown under saline conditions with sodium chloride. *Doklady Natsyyanal'nei akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2015, vol. 59, no. 4, pp. 95–101 (in Russian).
21. Averina N. G., Beizai Z., Shcherbakov R. A., Usatov A. V. The role of nitrogen metabolism in the formation of salt tolerance of barley plants (*Hordeum vulgare* L.) and wheat (*Triticum aestivum*). *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology], 2014, vol. 61, pp. 106–113 (in Russian).

Информация об авторах

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

Дремук Ирина Александровна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irinadremuk@yandex.ru

Усатов Александр Вячеславович – д-р биол. наук, профессор, Южный федеральный университет (ул. Большая Садовая, 105/42, 344006, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация). E-mail: usatova@mail.ru

Information about the authors

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

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

Alexandr V. Usatov – D. Sc. (Biol.), Professor. Southern Federal University (105/42, Bolshaya Sadovaya Str., 344006, Rostov-on-Don, Russian Federation). E-mail: usatova@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

UDC 598.243.3.088.7:577.21'311.347(4-021.21)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-17-25>

Received 02.10.2020

**Kanstantsin V. Homel, Mikhail E. Nikiforov, Aleksey V. Shpak,
Ekaterina E. Kheidorova, Arseni A. Valnisty**

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

PHYLOGEOGRAPHY AND GENETIC DIVERSITY OF THE COMMON SNIPE *GALLINAGO GALLINAGO* LINNAEUS, 1758 IN THE PALEARCTIC ACCORDING TO THE DATA OF THE mtDNA

Abstract. There are practically no studies on the genetic diversity and phylogeography of the common snipe. At the same time, there is a lot of research in this field for a number of other species of waders. It is known that comparison of phylogeographic data on the widest possible range of species that have an assumed common evolutionary history due to the influence of similar biogeographic, geological and climatic factors is necessary to establish the factors of similarity or differences in the patterns of formation and dynamics of their ranges, the patterns (regularities) of the formation of the population genetic structure. Thereby the goal of this article is to get data on the phylogeography of the common snipe in the Palearctic. The mtDNA control region is used as a genetic marker. As the result of analyzing data on polymorphism of mtDNA control region of common snipe, we have found out that its population is characteristic of low genetic diversity and genetic homogeneity. Also it has been shown that there are some signs of distinct genetic line of common snipe present at the easternmost part of its range in the Palearctic.

Keywords: *Gallinago gallinago*, common snipe, genetic diversity, phylogeography, the mtDNA control region, the Palearctic

For citation: Homel K. V., Nikiforov M. E., Shpak A. V., Kheidorova E. E., Valnisty A. A. Phylogeography and genetic diversity of the common snipe *Gallinago gallinago* Linnaeus, 1758 in the Palearctic according to the data of the mtDNA. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 17–25. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-17-25>

К. В. Гомель, М. Е. Никифоров, А. В. Шпак, Е. Э. Хейдорова, А. А. Волнистый

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам,
Минск, Республика Беларусь*

ФИЛОГЕОГРАФИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БЕКАСА (*GALLINAGO GALLINAGO* LINNAEUS, 1758) В ПАЛЕАРКТИКЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА мтДНК

Аннотация. Работы по исследованию генетического разнообразия и филогеографии бекаса практически отсутствуют. В то же время имеется много исследований в данном направлении для ряда других видов куликов. Как известно, сопоставление филогеографических данных по как можно большему спектру видов, имеющих предполагаемую общую эволюционную историю в силу влияния схожих биogeографических, геологических и климатических факторов, необходимо для установления факторов общности или различий паттернов становления и динамики их ареалов, закономерностей формирования популяционно-генетической структуры. В этой связи целью данной работы стало получение данных по филогеографии бекаса в Палеарктике. В качестве генетического маркера был выбран контрольный регион мтДНК. В результате было установлено, что популяция бекаса характеризуется низким уровнем генетического разнообразия и генетической гомогенностью. Однако были обнаружены признаки возможного формирования удаленной генетической линии в крайней восточной части ареала вида в Палеарктике.

Ключевые слова: *Gallinago gallinago*, бекас, генетическое разнообразие, филогеография, контрольный регион мтДНК, Палеарктика

Для цитирования: Филогеография и генетическое разнообразие бекаса (*Gallinago gallinago* Linnaeus, 1758) в Палеарктике по результатам анализа мтДНК / К. В. Гомель [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 17–25 (на англ.). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-17-25>

Introduction. Comparison of phylogeographic data on the widest possible range of species that have an assumed common evolutionary history due to the influence of similar biogeographic, geological and climatic factors is necessary to establish the factors of similarity or differences in the patterns of formation and dynamics of their ranges, the patterns (regularities) of the formation of the population genetic

structure. Such studies contribute to the advancement of the goals of comparative phylogeography – a direction the theoretical basis of which was determined by J. C. Avise et al. [1].

The main task of such study is to establish how similarities or differences in biogeographic history, in ecological plasticity and phenotypic flexibility can explain the differences or similarities observed in the genetic structure and diversity of genetic lines in different species with a similar range. Considering that the methodological basis of this direction is the comparison of information arrays by a large number of species, the lack of species-specific molecular genetic data with a view of their further joint analysis is still one of the main reasons impeding sweeping generalizations and conclusions. Therefore, the accumulation of information on intraspecific phylogeography for different animal species is an important source for the further study in this direction [2].

In this work, we demonstrate the results of a study on the phylogeography of a widespread (in terms of its range) Palearctic species – the common snipe (*Gallinago gallinago* (Linnaeus, 1758)). The mtDNA control region is used as a genetic marker.

According to the BirdLife International, the common snipe has an extremely wide range that does not give grounds to consider it as an endangered or vulnerable species [3]. The common snipe's range covers the entire Palearctic biogeographic region, with the exception of some southern and northern regions. The species, mainly migratory, winters in Europe and Africa (Fig. 1) and is characterized by a high degree of fidelity to wintering sites [3, 4]. The common snipe is mostly found in areas where there is a combination of grass cover and moist soils. The species includes two subspecies: *G. g. faeroensis* (C. L. Brehm, 1831) – Iceland, the Faroe Islands, the Orkney Islands and the Shetland Islands; it winters in the British Isles [4]. *G. g. gallinago* (Linnaeus, 1758) is spread nearly across the entire range of this species. The subspecies winters from Western Europe, the Mediterranean, and Equatorial Africa through the Middle East, Arabia and the Indian subcontinent to Eastern China, South Korea, South Japan, the Philippines, and Borneo [4].

In zoogeographic terms, the nature of the range and peculiarities of the intraspecies and ecological structure of common snipe populations are fundamentally very similar to those of many other species of waders previously related to a separate suborder and recently to several suborders of the order



Fig. 1. Distribution of the common snipe in the Palearctic and distribution of samples to study the species phylogeography (orange color – the sedentary habitat zone, green – the nesting range, blue – wintering sites, numbers in yellow circles – the number of samples from this location)

Charadriiformes. Phylogeographic data are already available for a number of wader's species [5]. But even though the common snipe is a very widespread and numerous hunting species, we have to state that there is a complete absence of works devoted to the study of the phylogeography of this particular species.

Works on the study of phylogeography and evolutionary history, taking into account the breeding system and biotopic preferences, were carried out for the Ruff (*Calidris pugnax*), the Dunlin (*Calidris alpina*), the Temminck's Stint (*Calidris temminckii*), the Common Redshank (*Tringa totanus*), the Black-tailed Godwit (*Limosa limosa*), the Kentish Plover (*Charadrius alexandrinus*), the Terek Sandpiper (*Xenus cinereus*), the Common Sandpiper (*Actitis hypoleucos*) [5 and inside references]. All of the listed species have a range similar to the common snipe's. The mtDNA control region, ND2 NADH dehydrogenase subunit 2 (the Common Sandpiper), cytochrome b (cyt b) and microsatellites (the Dunlin) were used as genetic markers [6]. With regard to the above-listed species, genetic structuring in the Palearctic region was established only for the dunlin [5–7] and the Black-tailed Godwit. Among the main reasons that led to the formation of genetic differentiation, long-term isolation during climatic changes within the last 250,000 years is indicated for the Dunlin [5, 7]. For the Black-tailed Godwit, the main factors that influenced the formation of genetic structuring are a strong division of the ancestral population, sufficient time for lineage sorting, and pronounced philopatry [5]. The absence of intraspecific genetic differentiation for other species of waders is explained by the use of different habitats during the period of breeding, migration and wintering (the Ruff), the use of ephemeral habitats (the Ruff, the Terek Sandpiper, the Kentish Plover), the polygamous breeding system (the Temminck's Stint, the Kentish Plover), incomplete lineage sorting (the Temminck's Stint), a wide and connected nesting range (the Terek Sandpiper, the Common Sandpiper), the absence of an affinity for specific wintering sites (the Terek Sandpiper), as well as incomplete habitat coverage in the framework of species research (the Redshank) [5].

When studying the genetic differentiation of Sanderling (*Calidris alba*) subpopulations from Greenland and Siberia [8], the mtDNA control region and microsatellites were used as genetic markers. Subpopulations of this species are separated by more than 2000 km. However, they mix in Europe during the migration period. The authors found only weak mtDNA differentiation between nesting sanderling populations and did not find any differentiation by microsatellite loci. Taking into account the geographic isolation of two nesting ranges, a low level of established differentiation may result from either historical isolation followed by significant gene flow, or recent isolation with no or weak subsequent gene flow. An interesting point is that for the Red Knot (*Calidris canutus*) (for the subspecies *C. canutus islandica* and *C. c. canutus*) with a similar distribution and ecology, a genetic differentiation was found dating back to the time of the Last Glacial Maximum based on the data of mtDNA control region's polymorphism [8].

Taking into account the work carried out on the phylogeography of waders in the Palearctic, it can be expected that genetic structuring of the common snipe throughout the entire range will be poorly expressed. The latter is due to pronounced migratory behaviour, a wide and connected nesting range and a wide wintering area.

Materials and research methods. In order to study the phylogeography and genetic structuring of the common snipe in the Palearctic, 19 samples were used: 6 from Belarus and 13 from Russia (Tab. 1).

Table 1. Common snipe samples used to study species phylogeography in the Palearctic

Sample code	Collection date	Place of collection
Samples from Belarus		
AV00181	04.04.2009	Gomel Oblast
AV02926	16.08.2005	
AV02928	02.08.2009	
AV02929	24.07.2009	
AV02934	11.08.2007	
AV03157	21.05.2017	Minsk Oblast

Samples from Russia		
RYA350	11.05.2002	Primorsky Krai
AV02925	?	
AV02924	12.05.2004	
NNY005	26.05.2006	Chukotka Autonomous Okrug
RYA2318	03.08.2006	
#176	27.06.2009	
#171	18.06.2009	
#209	28.05.2010	
AV02933	15.07.2002	
AV02931	25.07.2009	Moscow Oblast
AV02930	11.10.2008	Moscow, zoo
CBH2315	05.07.2008	Sakhalin
1175	19.05.2011	Altai

For analysis, we used the common snipe samples from the Genetic Bank of Wild Fauna of the State Scientific and Production Association “Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources”. The distribution of common snipe samples is demonstrated in Fig. 1. The used common snipe samples belong to the range of the *G. g. gallinago* subspecies. DNA was isolated from muscle tissue and blood using the Blood-Plant-Animal DNA Preparation Kit (Jena Bioscience, Germany). The isolated DNA quality was assessed using the NanoPhotometer P 330UV/Vis (IMPLEN, Germany).

The following primers were used for the second/third domain of the common snipe control region: L438 (5'-TCACGTGAAATCAGCAACCC-3') [7] and H1247 (5'-AACTTCAGTGCCATGCTTTG-3') [9].

PCR amplification was performed in 25 μ l of the reaction mixture containing 2.5 μ l of 10 \times buffer with (NH₄)₂SO₄ (Thermo Scientific), 2.5 μ l of the dNTPs mixture (2 mM of each nucleotide, Thermo Scientific), 3 μ l MgCl₂ (25 mM, Thermo Scientific), 2 μ l of the primers (5 pmol/ μ l) (manufactured by Primetech ODO), 0.1 μ l of Taq-polymerase (Thermo Scientific 500U), 2 μ l of test sample DNA, and 10.9 μ l of ddH₂O.

Temperature and time PCR regimes for the D-loop mtDNA of the common snipe: initial DNA denaturation at 95 °C for 2 min, then 35 cycles – DNA denaturation at 95 °C for 30 sec, primer annealing at 58 °C for 30 sec, elongation at 72 °C 90 sec, final elongation at 72 °C for 5 min. The CFX96 Touch amplifier (Bio-Rad Laboratories, Inc. USA) was used for PCR.

PCR products were sequenced using the GenomeLab GeXP Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Germany). For this, commercial reagents Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit (Beckman Coulter, Germany) and commercial protocols (Beckman Coulter) were used. Samples were sequenced using forward and reverse primers.

The sequences were checked and aligned (Muscle method) in MEGA version 6 [10]. To estimate the number of polymorphic sites, MEGA 6 and DnaSP version 6.10.04 were used [11]. Calculation of genetic diversity indicators: nucleotide diversity (π ; Nei, 1987), the number of haplotypes (h), the average number of nucleotide differences (k), haplotype diversity (Hd, Nei 1987), the number of segregation sites (S), θ_s (theta per site (from S) Watterson 1975, Nei 1987) – the θ measure based on the number of segregating sites; was carried out in DnaSP. Haplotype network construction was carried out in the POPART program using the Median Joining Network algorithm [12].

Calculation of demographic data (presence/absence of population expansion in the past) was carried out in DnaSP and Arlequin 3.5.1.2 [13]. For that, such indicators as Fu's Fs, Tajima's D and raggedness index (r) were calculated. Negative values in case of Fs and D indicate the processes of population expansion in the past [14]. To estimate the confidence level (p) of these indicators, coalescent simulation was used using both theta and the number of segregating sites in DnaSP. In addition, a mismatch distribution graph between the pairs of sequences was constructed in DnaSP. Where there is a unimodal graph, this test indicates the fact of population expansion in the past. In this situation, low values of the

raggedness index (quantitative assessment of the smoothness of the mismatch distribution for the demographic scenarios of population expansion and stability in the past) and low values of the sum of squared deviations (SSD) from the sudden expansion model under testing correspond to it [15, 16].

In order to establish if there is differentiation between the genetic lines of the common snipe within the Palearctic range, the F_{st} indicator (distance method: pairwise difference, 1000 permutation) was calculated and an exact test on the presence of differentiation based on haplotype frequencies (an exact test of sample differentiation based on haplotype frequencies, default settings) was carried out in Arlequin.

Results and its discussion. As a result of the alignment, a sequence of 548 bp was obtained. Taking into account available ambiguous nucleotides, as well as insertions/deletions, the length of the analyzed sequence was 545 bp. The investigated sequence is characterized by the predominance of pyrimidine transitions. The number of variable sites equaled 5 (MEGA 6 data) or 4 (DnaSP, one site with the presence of an ambiguous nucleotide was not taken into account), and out of them, 2 sites were parsimony-informative (MEGA 6) or 1 (DnaSP, one site with the presence of an ambiguous nucleotide was not taken into account). Among the 19 investigated sequences, 4 haplotypes were found (Tab. 2).

Table 2. Common snipe haplotypes based on mtDNA control region polymorphism

Haplotype	Haplotype according to PopART	Number of samples	Samples included in the haplotype
Hap_1	GG_1	13	181_Gomel_obl_Belarus, RYA350_Primorsky_Krai_Russia, 1175_Altai_Russia, RYA2318_Chukotka_Russia, 2928_Gomel_obl_Belarus, 2929_Gomel_obl_Belarus, 2930_Moscow_zoo_Russia, 2933_Chukotka_Russia, 209_Chukotka_Russia, 3157_Minsk_obl_Belarus, 2934_Gomel_obl_Belarus, CBH2315_Sakhalin_Russia, NNY005_Chukotka_Russia
Hap_2	GG_2	4	176_Chukotka_Russia, 2924_Primorsky_Krai_Russia, 2931_Moscow_obl_Russia, 171_Chukotka_Russia
Hap_3	GG_7	1	2925_Primorsky_Krai_Russia
Hap_4	GG_8	1	2926_Gomel_obl_Belarus



Fig. 2. Distribution of the common snipe haplotypes within the Palearctic range

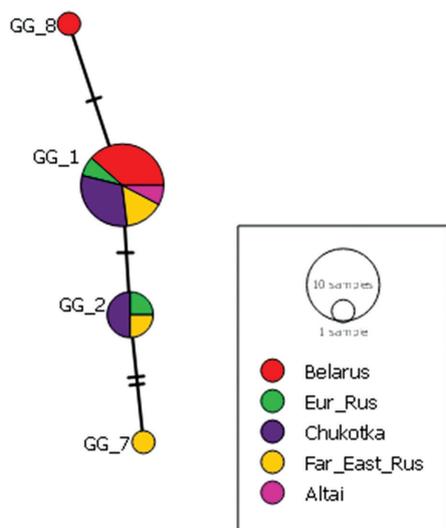


Fig. 3. Haplotype network (median-joining) for the common snipe based on mtDNA control region's polymorphism

For the investigated sample of sequences, the GG_1 haplotype was established, including the predominant (68 %) number of analyzed sequences of the mtDNA control region of the common snipe. The haplotype included the samples from the Far East of Russia, from Altai and Eastern Europe – Belarus, Russia (Moscow), i. e. the haplotype combines samples both from the edges and central part of the common snipe range. Since the common snipe is a migratory species, the probability of the presence of samples not only from local birds, but also from migrants must be considered. In this regard, representative samples that allow concluding that birds from different parts of the range belong to the same haplotype are as follows: from the western part of the range – AV00181, AV03157 (Belarus), from the eastern part of the range – RYA350 (Primorsky Krai), NNY005, #209 (Chukotka AO), CBH2315 (Sakhalin), from the central part of the range – 1175 (Altai). The second largest haplotype, GG_2, combined 4 samples of the common snipe from the Far East of Russia (3 samples) and European Russia (1 sample). In the latter haplotype, it is likely that the sample from European Russia (AV02931) belonged to a migratory bird, while all other

samples most likely belonged to local birds. The remaining two haplotypes are unique – one of them is from the eastern part of the range (GG_7) and the other one is from the most extreme western part of the range (GG_8). The latter haplotype is unlikely to belong to the place of collection (Belarus) due to the late dates of bird catching.

Distribution of haplotypes within the range is shown in Fig. 2.

Genetic structure of the common snipe population in the form of a haplotype network is shown in Fig. 3.

Relying on the obtained haplotype network, it is possible to speak about the absence of certain genetic structuring. The presented haplotypes are equidistant from the haplotype with the highest frequency (GG_1). At the greatest distance from GG_1, there is a haplotype from the Far East of Russia (GG_7, Primorsky Krai). Such location of the latter haplotype is possibly associated with the formation of a genetic line for birds, which are at an extreme distance and winter in the nearby wintering range in the east. However, this requires verification due to the small sample size. Regarding the distant GG_8 haplotype noted in Belarus, we can most likely say that this is a migrant.

Haplotype structure of the common snipe population is consistent with the phylogenetic tree topology (Fig. 4).

As well as the above haplotype network, the structure of the common snipe phylogenetic tree confirms, despite low bootstrap values, the genetic similarity of birds from distant parts of the range (clade with bootstrap value = 28). Based on the tree structure, it is possible to assume that the ancestral haplotype was GG_8 (sample AV02926), since it is the most ancient in relation to the rest. The subsequently separated haplotype GG_1 (clade with bootstrap value = 28) spread widely due to the long-distance migrations of the species. The GG_2 haplotype along with GG_7 haplotype diverged from the latter is possibly a genetic line of birds adhering to remote wintering sites in the east, and this determines their isolation from the birds of the GG_1 haplotype line. The established differentiation of lines is supported by a high level of the $F_{st} = 0.84$ ($p < 0.001$) index and the data from an exact test of differentiation ($p < 0.001$). Given the small sample, the result obtained requires further verification.

Genetic diversity and demographic history data in relation to the common snipe is presented in Tab. 3.

Genetic diversity data on the common snipe population indicates its low level. Nevertheless, there are no signs that the population was exposed to sharp decreases in its size in the past (negative and statistically not significant values of Tajima's D index). There was weak evidence of a rapid increase in the common snipe's population in the past – $F_s = -2.962$ ($p = 0.015$). The latter is supported by the

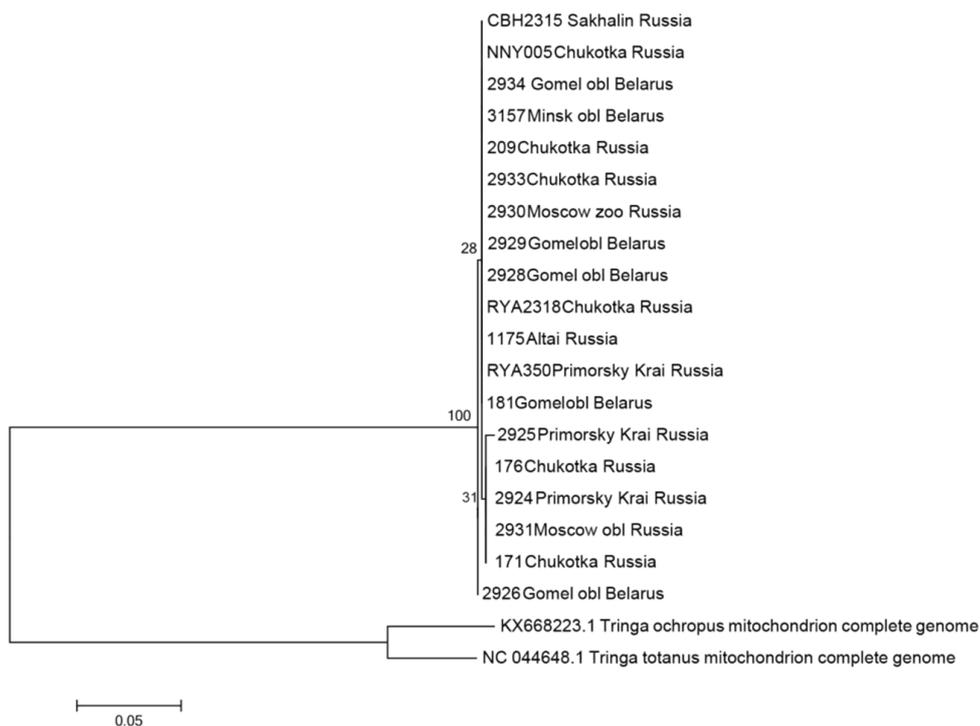


Fig. 4. Phylogenetic relationship tree of the common snipe within the habitat range according to the data on mtDNA control region's polymorphism (HKY + G, excluding insertions/deletions and ambiguous nucleotides, 1000 replications)

mismatch distributions graph in relation to the frequencies of nucleotide differences among the analyzed sequences of the mtDNA control region and accompanying statistics (SSD, Raggedness index (r)) (Fig. 5).

Taking into account the data obtained on the genetic diversity and structure of the common snipe's population in the Palearctic, it is possible to speak about the gene flow between remote populations in the past and present time. Considering phylogenetic reconstruction and genetic subdivision data, it is possible to assume that the formation of distant genetic lines at the edge of the range (the Far East of Russia) is a possible consequence of their belonging to different wintering regions and general remoteness from other more western populations.

Table 3. Genetic diversity and demographic history estimates of the common snipe according to the polymorphism of mtDNA control region

Estimate	Value
N	19
h	4
Hd ± SD	0,509 ± 0,117
π ± SD	0,00133 ± 0,00046
k	0,72515
Theta per site (from S) (Theta-W)	0,00210
Fu's Fs (DnaSP)	-0,787 NS
Tajima's D (DnaSP)	-1,07883 NS
Fu's Fs (Arlequin)	-2,96231*
Tajima's D (Arlequin)	-0,70719 NS
SSD (Arlequin)	0,0116 NS
Raggedness index (r) (Arlequin)	0,05 NS

Note. N – sample, SD – standard deviation, NS – statistically not significant, * – $p < 0.05$.

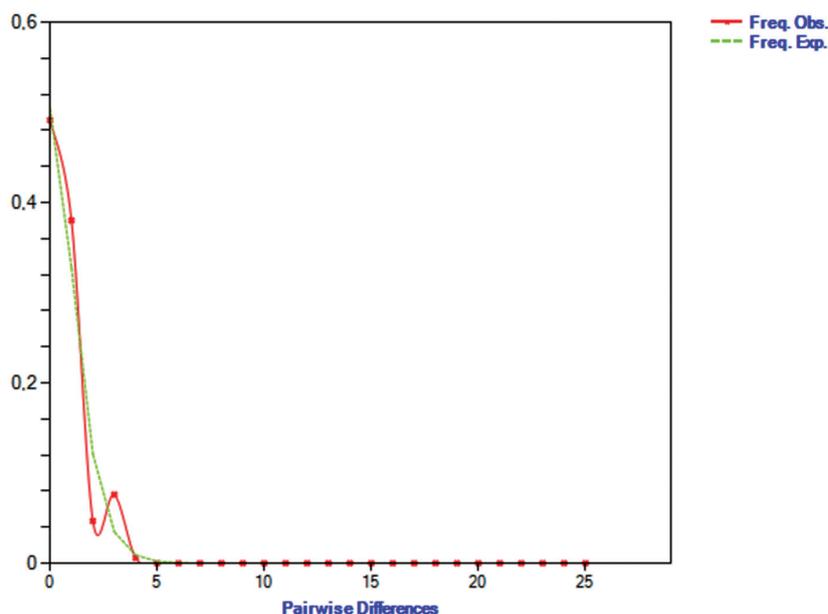


Fig. 5. Mismatch distributions graph in relation to the frequencies of nucleotide differences in a pairwise sequence comparison of the mtDNA control region of the common snipe for testing a model of a sudden population expansion in the past. Freq. Exp. – the expected frequency of differences, Freq. Obs. – the observed frequency of differences, X axis reflects pairwise difference, Y axis reflects frequency of the difference across sequences

The presence of a common haplotype (GG_1) for birds from geographically distant parts of the range may serve as evidence of populations' mix in wintering ranges. In addition, based on the results of our earlier study, the common snipe was attributed to the Northern Palearctic Group of the Transpalearctic Ornithofaunal Holocene Complex the representatives of which manifest zonal distribution dependences in a lesser degree [17]. At the end of the Pleistocene, the extended ranges of such species were formed in the periglacial and peripheral territories of glaciation regardless of individual refugia and refugial zones and then developed with a gradual expansion of northern boundaries as the glacier was retreating. Thus, the absence of long-term isolation during glaciation, wide topical plasticity, and consequently the extended nature of the range, as well as their potential to mix in the wintering range, could contribute to the formation of such a common haplotype.

Conclusion. In general, the results obtained are consistent with the conclusion [5] with respect to other species of waders with the similar (in terms of latitude and form) distribution as of the common snipe's that the nature of the formation of genetic structuring in them does not demonstrate a certain tendency, but is most likely determined by the characteristics of the species-specific breeding system, biotopic preferences and historical demography during the periods of climatic oscillations.

Acknowledgements. The authors would like to thank our colleagues from the Zoological Museum of Moscow University (Russia) and the laboratory of ornithology of SSPA "Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources" for providing and transferring samples of the common snipe.

References

1. Avise J. C. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Cambridge, Harvard University Press, 2000. 447 p.
2. Gutiérrez-García T. A., Vázquez-Domínguez E. Comparative phylogeography: designing studies while surviving the process. *BioScience*, 2011, vol. 61, no. 11, pp. 857–868. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.11.5>
3. *Common Snipe Gallinago gallinago*. Available at: <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/common-snipe-gallinago-gallinago> (accessed 01.12.2020).
4. Van Gils J., Wiersma P., Kirwan G. M., Sharpe C. J. Common Snipe (*Gallinago gallinago*). *Birds of the World*, 2020. <https://doi.org/10.2173/bow.comsni.01>
5. Rönkä N. *Phylogeography and conservation genetics of waders*. Oulu, Acta Universitatis Ouluensis, 2016. 90 p.
6. Miller M. P., Haig S. M., Mullins T. D., Ruan L., Casler B., Dondua A. [et al.]. Intercontinental genetic structure and gene flow in Dunlin (*Calidris alpina*), a potential vector of avian influenza. *Evolutionary Applications*, 2015, vol. 8, no. 2, pp. 149–171. <https://doi.org/10.1111/eva.12239>

7. Wenink P. W., Baker A. J., Tilanus M. G. J. Hypervariable-control-region sequences reveal global population structuring in a long-distance migrant shorebird, the Dunlin (*Calidris alpina*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, vol. 90, no. 1, pp. 94–98. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.1.94>
8. Conklin J. R., Reneerkens J., Verkuil Y. I., Tomkovich P. S., Palsbøll P. J., Piersma T. Low genetic differentiation between Greenlandic and Siberian Sanderling populations implies a different phylogeographic history than found in Red Knots. *Journal of Ornithology*, 2016, vol. 157, no. 1, pp. 325–332. <https://doi.org/10.1007/s10336-015-1284-4>
9. Quinn T. W., Wilson A. C. Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. *Journal of Molecular Evolution*, 1993, vol. 37, no. 4, pp. 417–425. <https://doi.org/10.1007/BF00178871>
10. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A. S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, vol. 30, no. 12, pp. 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
11. Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J. C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S. E., Sánchez-Gracia A. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2017, vol. 34, no. 12, pp. 3299–3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
12. *PopART (Population Analysis with Reticulate Trees)*. Available at: <http://popart.otago.ac.nz/index.shtml> (accessed 01.12.2020).
13. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2007, vol. 1, pp. 47–50. <https://doi.org/10.1177/117693430500100003>
14. Ramos-Onsins S. E., Rozas J. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, vol. 19, no. 12, pp. 2092–2100. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004034>
15. Rogers A. R., Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 1992, vol. 9, no. 3, pp. 552–569. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040727>
16. Maltagliati F., Giuseppe G. Di., Barbieri M., Castelli A., Dini F. Phylogeography and genetic structure of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) inferred from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2010, vol. 100, no. 4, pp. 910–923. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2010.01482.x>
17. Nikiforov M. E. *Formation and structure of the avifauna of Belarus*. Minsk, Belorusskaya nauka Publ., 2008. 297 p.

Information about the authors

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

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

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

Ekaterina E. Kheidorova – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: hejkat@mail.ru

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

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

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

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

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

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

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 579.873.6
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-26-36>

Поступила в редакцию 04.09.2020
Received 04.09.2020

А. А. Букляревич, М. А. Титок

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCUS*

Аннотация. Анализ генов и кодируемых ими белков GroEL бактерий рода *Rhodococcus*, способного деградировать широкий спектр органических и неорганических субстратов, показал, что данные детерминанты могут быть использованы в качестве молекулярно-генетических маркеров для видовой идентификации. Разработана схема, позволяющая на основании рестрикционного анализа продуктов ПЦР генов *groEL* с применением рестриктаз *BglI*, *NarI*, *SfiI*, *SinI* и *RseI* устанавливать видовую принадлежность природных бактерий рода *Rhodococcus*. Аннотировано 52 локуса генома, определяющие устойчивость бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap к стрессовым условиям среды (49 структурных и 4 регуляторных гена, детерминирующих синтез 23 белков теплового шока, 9 универсальных стрессовых белков, 17 цитохромов P450). Среди изученных детерминант выявлены уникальные нуклеотидные последовательности плазмидного и хромосомного происхождения, кодирующие синтез белка теплового шока DnaK (1 плазмидный ген) и цитохромов P450 (2 хромосомных и 1 плазмидный), которые могут использоваться для молекулярного типирования биотехнологического штамма *R. pyridinivorans* 5Ap.

Ключевые слова: *Rhodococcus*, белки теплового шока, идентификация, *groESL*, рестрикционный анализ

Для цитирования: Букляревич, А. А. Молекулярно-генетические маркеры для идентификации природных бактерий рода *Rhodococcus* / А. А. Букляревич, М. А. Титок // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 26–36. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-26-36>

Hanna A. Bukliarevich, Marina A. Titok

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS MARKERS FOR IDENTIFICATION OF *RHODOCOCCUS* BACTERIA SPECIES

Abstract. It was established that *groEL* genes can be used as molecular genetic markers for species identification of *Rhodococcus* bacteria. A restriction analysis scheme was developed for the PCR products of *groEL* genes using restriction enzymes *BglI*, *NarI*, *SfiI*, *SinI*, and *RseI* to identify the species of natural *Rhodococcus* bacteria. Fifty-two genome loci determining the resistance to stressful environmental condition were annotated in genome of *R. pyridinivorans* strain 5Ap (i.e. 49 structural and 4 regulatory genes that determine the synthesis of 23 heat shock proteins, 9 universal stress proteins, 17 P450 cytochromes). The unique nucleotide sequences encoding the synthesis of the heat shock protein DnaK (1 plasmid gene) and P450 cytochromes (2 chromosomal and 1 plasmid) were found among these genes. Thus, they can be used for molecular typing of the biotechnological *R. pyridinivorans* strain 5Ap.

Keywords: *Rhodococcus*, heat shock proteins, identification, *groESL*, restriction analysis

For citation: Bukliarevich H. A., Titok M. A. Molecular-genetic analysis markers for identification of *Rhodococcus* bacteria species. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 26–36 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-26-36>

Введение. Определение видового статуса является важным этапом изучения природных микроорганизмов. Видовой статус позволяет судить о степени биологической безопасности микроорганизмов (патогенный, условно патогенный и непатогенный), служит основой для изучения особенностей генетической организации и является залогом успешного практического использования. Определенный научный интерес представляет систематика бактерий рода *Rhodococcus*. Представители данной таксономической группы, характеризующиеся способностью деградировать широкий спектр органических и неорганических субстратов, продуцировать поверхностно-активные соединения, широко используются в области экологической биотехнологии [1]. В то же время некоторые виды являются патогенами животных (например, *R. equi*) и растений

(например, *R. fascians*) [2]. Для идентификации родококков используют целый арсенал физиолого-биохимических и молекулярно-генетических методов [3]. Особое внимание уделяют патогенам. Например, для выявления патогенных бактерий *R. equi* (синоним *R. hoagie*) используют нуклеотидные последовательности генов *vapA*, *vapN*, *choE*, *gapdh*, *mdh*, *rpoB*, *adk*, *tpi*, *iel*, *recA* [4–8]. Систематика почвенных бактерий-деструкторов рода *Rhodococcus* разработана в меньшей степени.

Традиционно для диагностики данных микроорганизмов используют последовательности генов 16S рНК [9] и некоторые другие генетические маркеры (например, гены, кодирующие катехолдиоксигеназы, алканмоноксигеназы, гиразы) [7, 10]. Однако знание полных нуклеотидных последовательностей отдельных детерминант и даже целых геномов не всегда позволяет установить точный видовой статус природных изолятов. Филогенетический анализ бактерий рода *Rhodococcus*, основанный на сходстве нуклеотидных последовательностей геномов, жизненно важных генов и консервативных белков, позволил выделить 7 филогенетических групп (А, В, С, D, E, F и G) [11]. При этом виды, входящие в состав одной филогенетической линии, характеризуются высоким сходством генов 16S рНК (до 99 %), что не позволяет идентифицировать их на основании анализа данной детерминанты [11].

Особые затруднения вызывают представители филогенетических линий, представленных разными видами. В этом плане наиболее разнообразными являются группа В (представлена видами *R. coprophilus*, *R. aetherivorans*, *R. ruber*, *R. pyridinivorans*, *R. biphenylivorans*, *R. rhodochrous*) и С (представлена видами *R. opacus*, *R. imtechensis*, *R. jostii*, *R. wratislaviensis*, *R. koreensis*). Следует отметить, что сложности в систематике возникают при идентификации любых микроорганизмов, выделенных из природной среды обитания. Особую сложность представляет идентификация почвенных изолятов. В силу аккумуляции в почвах различного рода химических соединений выживание микробной популяции обеспечивается горизонтальным переносом генов, что приводит к появлению новых фенотипических признаков, не характерных для типичных представителей вида. С развитием методов полногеномного секвенирования сформировано более четкое понятие о видовом пангеноме. При этом понятие вида не утратило своей актуальности и имеет большое значение для выявления патогенных микроорганизмов и микроорганизмов, перспективных в биотехнологическом отношении.

В качестве маркеров, позволяющих идентифицировать природные микроорганизмы (в частности, род *Rhodococcus*), необходимо использовать генетические детерминанты, характеризующиеся консервативностью и вариабельностью. В этом плане определенный интерес представляют гены, детерминирующие синтез белков теплового шока. Данные детерминанты выявляются в клетках всех живых организмов, а их продукты являются ключевыми в процессах адаптации к стрессовым условиям среды. Поскольку бактерии рода *Rhodococcus* способны существовать в экстремальных условиях, не пригодных для жизнедеятельности других организмов (например, в присутствии широкого спектра углеводов, ионов тяжелых металлов, при повышенном содержании NaCl, экстремальных значениях температуры и pH-среды), системы адаптации этих бактерий должны быть организованы таким образом, чтобы обеспечить их выживание под действием стрессовых факторов. Подобно системам деградации, гены адаптации могут быть представлены несколькими копиями хромосомного и внехромосомного происхождения [12] и характеризоваться видо- и даже штаммоспецифичностью. Поиск и характеристика таких детерминант позволят не только определить видовой статус вновь выделенных микроорганизмов рода *Rhodococcus*, но и провести паспортизацию биотехнологически важных штаммов для их дальнейшего коммерческого использования.

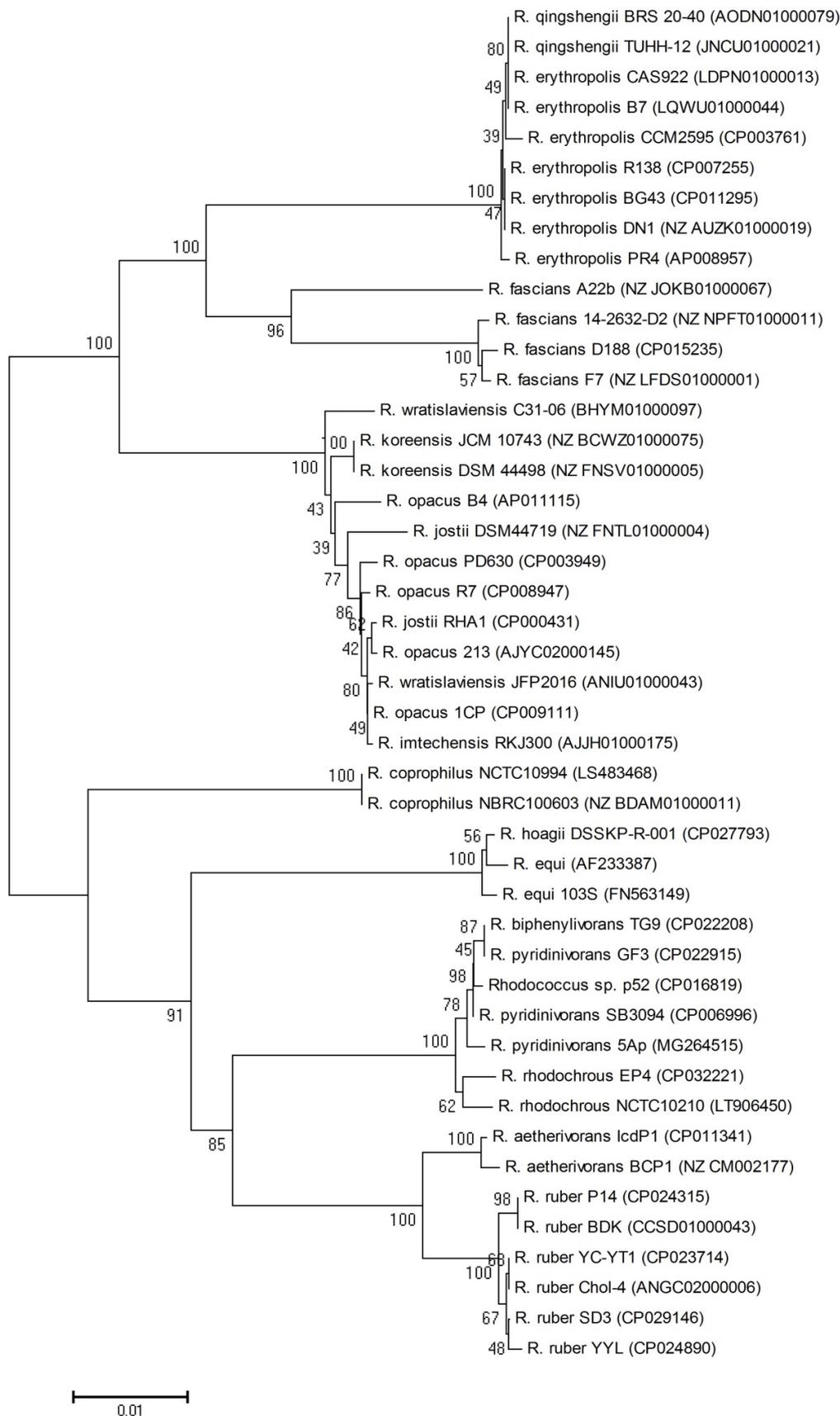
Цель настоящего исследования – молекулярно-генетический анализ генов, кодирующих белки теплового шока бактерий рода *Rhodococcus*, пригодных для их видовой идентификации, а также поиск детерминант для типирования биотехнологического штамма *R. pyridinivorans* 5Ap, способного деградировать широкий спектр органических субстратов в стрессовых условиях среды (экстремальная температура, осмолярность, наличие тяжелых металлов, высокие и низкие значения pH-среды и др.).

Материалы и методы исследования. В ходе работы были использованы нуклеотидные последовательности бактерий из базы данных GenBank *R. jostii* RHA1 (CP000431), *R. jostii* DSM 44719 (NZ_FNTL01000004), *R. opacus* B4 (AP011115), *R. opacus* R7 (CP008947), *R. opacus* PD630 (CP003949), *R. opacus* 1CP (CP009111), *R. opacus* 213 (AJYC02000145), *R. wratislaviensis* C31-06 (BHYM01000097), *R. wratislaviensis* JFP2016 (ANIU01000043), *R. koreensis* JCM 10743 (NZ_BCWZ01000075), *R. koreensis* DSM 44498 (NZ_FNSV01000005), *R. imtechensis* RKJ300 (AJJH01000175), *R. erythropolis* R138 (CP007255), *R. erythropolis* BG43 (CP011295), *R. erythropolis* CCM2595 (CP003761), *R. erythropolis* PR4 (AP008957), *R. erythropolis* B7 (LQWU01000044), *R. erythropolis* CAS922 (LDPN01000013), *R. erythropolis* DN1 (NZ_AUZZK01000019), *R. qingshengii* BRS 20-40 (AODN01000079), *R. qingshengii* TUHH-12 (JNCU01000021), *R. fascians* D188 (CP015235), *R. fascians* F7 (NZ_LFDS01000001), *R. fascians* A22b (NZ_JOKB01000067), *R. fascians* 14-2632-D2 (NZ_NPFT01000011), *R. coprophilus* NCTC10994 (LS483468), *R. coprophilus* NBRC100603 (NZ_BDAM01000011), *R. aetherivorans* IcdP1 (CP011341), *R. aetherivorans* BCP1 (NZ_CM002177), *R. ruber* YC-YT1 (CP023714), *R. ruber* SD3 (CP029146), *R. ruber* YYL (CP024890), *R. ruber* P14 (CP024315), *R. ruber* BDK (CCSD01000043), *R. ruber* Chol-4 (ANGC02000006), *R. pyridinivorans* SB3094 (CP006996), *R. pyridinivorans* 5Ap (MG264515.1), *R. biphenylivorans* TG9 (CP022208.1), *R. pyridinivorans* GF3 (CP022915), *Rhodococcus* sp. p52 (CP016819), *Rhodococcus* sp. 2G (CP018063), *R. rhodochrous* EP4 (CP032221), *R. rhodochrous* NCTC10210 (LT906450), *R. hoagii* DSSKP-R-001 (CP27793), *R. equi* 103S (FN563149), *R. equi* (AF233387).

Для поиска последовательностей генов, определяющих устойчивость бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap к стрессовым условиям среды, использовали программу SnapGene Viewer (последовательность генома бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap размещена на сайте www.bio.bsu.by/microbio/rhodococcus_genome.html). Молекулярно-генетический анализ проводили с помощью программы BLAST, используя методы анализа нуклеотидных (алгоритмы megablast и blastn) и аминокислотных последовательностей, филогенетический анализ – с помощью программы MEGA, используя метод ближайших соседей (Neighbor – Joining).

Результаты и их обсуждение. Для выявления и идентификации природных бактерий рода *Rhodococcus* использовали гены, детерминирующие синтез белков теплового шока *groEL*. Данные белки являются ключевыми в системе адаптации микроорганизмов к стрессовым условиям среды. Присутствуя в геноме всех живых организмов, они характеризуются разным числом копий с разным нуклеотидным составом [12]. Для установления возможности использования данных детерминант для идентификации бактерий рода *Rhodococcus* проведен анализ полноразмерных нуклеотидных последовательностей генов *groEL2* размером 1626 п. н., кодирующих полипептиды, состоящие из 541 аминокислоты. Показано, что для ряда представителей актиномицетов данные детерминанты являются жизненно необходимыми [13–15].

Для филогенетического анализа использовали нуклеотидные последовательности генов *groEL2* бактерий, наиболее широко представленных в базе данных NCBI (гены бактерий групп А, В, С, D и Е). Именно представители этих филогенетических линий наиболее часто выявляются в природной среде и характеризуются биодegradативными свойствами (представители групп В, С и D) либо являются патогенами растений (группа Е) и животных (группа А). В результате было установлено, что гены *groEL2* характеризуются несколько отличным от 16S рРНК филогенетическим родством. Данные детерминанты близкородственных видов достоверно отличаются между собой. В частности, гены *groEL2* группы В, включающей виды *R. coprophilus*, *R. aetherivorans*, *R. ruber*, *R. pyridinivorans*, *R. biphenylivorans* и *R. rhodochrous*, разбиваются на три филогенетические подгруппы, представленные детерминантами бактерий видов *R. coprophilus* (условно подгруппа 1), *R. pyridinivorans*, *R. biphenylivorans* и *R. rhodochrous* (условно подгруппа 2), *R. aetherivorans* и *R. ruber* (условно подгруппа 3). При этом внутри каждой подгруппы у представителей разных видов они также отличаются между собой (см. рисунок). Отдельные филогенетические подгруппы образуют гены *groEL2* бактерий рода *Rhodococcus*, являющихся патогенами растений (группа Е) и животных (группа А). Несколько иная картина наблюдалась для филогенетической линии С (представлена видами *R. opacus*, *R. imtechensis*, *R. jostii*, *R. wratislaviensis* и *R. koreensis*). Исследуемые детерминанты сходны между собой у представителей данных видов (см. рисунок).



Филогенетическое дерево генов *groEL2* бактерий рода *Rhodococcus*
 Phylogenetic tree of *groEL2* genes of the genus *Rhodococcus*

Детальный анализ аминокислотных последовательностей GroEL2 исследуемых бактерий позволил подтвердить выявленные закономерности. В частности, установлены уникальные аминокислотные последовательности в пределах каждой таксономической группы, а также для отдельных видов внутри группы (табл. 1). Исключение составили бактерии *R. erythropolis* и *R. qingshengii*, которые не отличались между собой по составу белков GroEL2 и имели единственное отличие от других бактерий рода *Rhodococcus*, а именно: содержали уникальную аминокислоту в позиции 62, представленную аспарагином (у всех остальных 62-я аминокислота – аспарагиновая).

Т а б л и ц а 1. Особенности аминокислотного состава белков GroEL2 бактерий рода *Rhodococcus*

Table 1. The amino acid composition of GroEL2 proteins of the genus *Rhodococcus*

Группа	Уникальная аминокислота (позиция)*	Представители	Уникальные аминокислоты
A	S (154), T (155), S (180), A (241), S (421), S (473), M (529)	<i>R. hoagii</i>	**
B	V (312), S (339), S (525), S (526)	<i>R. coprophilus</i>	**
	G (144), G (223), A (246), D (332)	<i>R. aetherivorans</i> , <i>R. ruber</i>	I (274), A (487), V (274), G (487)
	E (470), D (481)	<i>R. pyridinivorans</i> , <i>R. biphenylivorans</i> , <i>R. rhodochrous</i>	L (314), E (426), V (529) V (314), K (426), V (529), L (314), E (426), A (529)
D	D (62)	<i>R. erythropolis</i> R138, <i>R. qingshengii</i> BRS 20–40	**
E	A (124), E (128), S (129), A (132), S (133), S (334), S (337), N (426), V (437)	<i>R. fascians</i> D188	**

П р и м е ч а н и е. * – аминокислоты обозначены согласно общепринятой номенклатуре, ** – аминокислоты соответствуют уникальным аминокислотным последовательностям, характерным для группы.

Таким образом, можно заключить, что белки GroEL2 отличаются у бактерий разных групп и имеют внутригрупповые отличия. Исключение составили идентичные белки теплового шока бактерий *R. erythropolis* и *R. qingshengii* (группа D). Однако сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей генов *groEL2* данных бактерий с таковыми представителей других групп позволил выявить определенную закономерность. Все исследованные штаммы *R. erythropolis* и *R. qingshengii* имели 11 одинаковых точечных нуклеотидных замен, отличающих их от всех остальных бактерий рода *Rhodococcus*. При этом все выявленные мутационные изменения являлись синонимическими, не меняющими смысл кодонов (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Уникальные точечные синонимические мутации генов *groEL2* бактерий *R. erythropolis* и *R. qingshengii*

Table 2. Unique synonymous mutations in the *R. erythropolis* and *R. qingshengii* *groEL2* genes

Координата, п. н.	Позиция аминокислоты в белке	Аминокислота	Кодон	Представители остальных групп	
				Кодон	Аминокислота
6 (A)	2	Аланин	<u>GCG</u>	GCC	Аланин
375 (T)	125	Аланин	<u>GCT</u>	GCC	Аланин
447 (T)	149	Изолейцин	<u>ATT</u>	ATC	Изолейцин
489 (T)	163	Аланин	<u>GCT</u>	GCC	Аланин
919 (T)	307	Лейцин	<u>TTG</u>	CTC	Лейцин
1017 (A)	339	Аланин	<u>GCA</u>	GCC	Аланин
1029 (T)	343	Аргинин	<u>CGT</u>	CGC	Аргинин
1071 (T)	357	Аспарагиновая кислота	<u>GAT</u>	GAC	Аспарагиновая кислота
1095 (A)	365	Глютаминовая кислота	<u>GAA</u>	GAG	Глютаминовая кислота
1545 (A)	515	Глютаминовая кислота	<u>GAA</u>	GAG	Глютаминовая кислота
1551 (T)	517	Валин	<u>GTT</u>	GTC	Валин

П р и м е ч а н и е. Нуклеотидные замены подчеркнуты.

Тем не менее, присутствие в пределах гена *groEL2* бактерий *R. erythropolis* и *R. qingshengii* уникальных нуклеотидов, характерных для достаточно большой выборки штаммов, позволяет рассматривать их как потенциальные сайты, пригодные для идентификации бактерий этой таксономической группы. Вместе с тем характерных особенностей, позволяющих отличить *R. erythropolis* от *R. qingshengii*, выявить не удалось. Такая же картина наблюдалась при анализе генов *groEL2* у разных видов, относящихся к филогенетической группе С. Однако, в отличие от других исследованных бактерий, все представители группы С содержали дополнительно третий ген *groEL3*, который характеризовался межвидовыми особенностями (нуклеотидные последовательности данных детерминант отличались между собой у представителей видов *R. opacus*, *R. wratislaviensis*, *R. imtechensis*, *R. jostii* и *R. koreensis*).

Выявленные полиморфные локусы в генах *groEL2* (933–1017, 1276–1443 и 1573–1578 п. н.), а также нуклеотидные последовательности генов *groEL3* бактерий *R. opacus*, *R. wratislaviensis*, *R. imtechensis*, *R. jostii* и *R. koreensis*, характеризовавшиеся межвидовым полиморфизмом, обосновали поиск определенных ферментов рестрикции, пригодных для идентификации бактерий рода *Rhodococcus*. В результате проведенного анализа было установлено, что полиморфные участки различаются сайтами рестрикции для ферментов *BglI*, *NarI*, *SfiI*, *SinI* и *RseI*, что позволяет идентифицировать бактерии рода *Rhodococcus* до вида. Для этого с помощью праймеров F (5'-ATGGCMAAGATCATCGCGTTTCG-3') и R (5'-TYAGAAGTCCATRCCRCCCATG-3'), используемых в следующем режиме: при 95 °С – 5 мин (1 цикл), при 95 °С – 30 с, при 60 °С – 45 с, при 72 °С – 1 мин 40 с (30 циклов), при 72 °С – 10 мин (1 цикл), необходимо амплифицировать последовательности генов *groEL2*. Рестрикция полученных ампликонов размером 1626 п. н. ферментами *BglI*, *NarI*, *SfiI* и *SinI* позволяет отнести анализируемые штаммы к определенной филогенетической группе (табл. 3).

Таблица 3. Результаты рестрикционного анализа генов *groEL2* для установления принадлежности бактерий к определенной филогенетической группе

Table 3. The results of the *groEL2* genes restriction analysis for species specific identification of *Rhodococcus* bacteria

Группа	Идентификация группы		Представители группы
	Фермент	Сайты рестрикции	
А	<i>SinI</i>	91, 186, 276, 633, 687, 1266, 1449	<i>R. hoagii</i>
В	<i>SfiI</i>	370	<i>R. pyridinivorans</i> , <i>R. biphenylivorans</i> , <i>R. rhodochrous</i>
	<i>NarI</i>	206	<i>R. coprophilus</i>
	<i>BglI</i>	370, 823, 1108, 1333	<i>R. aetherivorans</i> , <i>R. ruber</i>
С	<i>NarI</i>	131, 326	<i>R. opacus</i> , <i>R. koreensis</i> , <i>R. wratislaviensis</i> , <i>R. jostii</i> , <i>R. jostii</i>
		326, 1594	<i>R. imtechensis</i>
Д	<i>BglI</i>	823, 1108	<i>R. erythropolis</i> , <i>R. qingshengii</i>
Е	<i>BglI</i>	823, 1108, 1141	<i>R. fascians</i>

После этого с использованием рестрикционного анализа можно установить видовую принадлежность исследуемых бактерий (табл. 4). Так, для представителей филогенетической группы С (кроме бактерий вида *R. imtechensis*) дополнительно необходимо амплифицировать последовательности генов *groEL3* (данная группа отличается от остальных присутствием в геноме трех

детерминант *gro*). Для этого с помощью праймеров F (5'-ATG GCC AAG ATC ATC GCG TTC-3') и R (5'-ACCATGCCTTCGGCGAGATC-3'), используемых в следующем режиме: при 95 °С – 5 мин (1 цикл), при 95 °С – 30 с, при 60 °С – 45 с, при 72 °С – 1 мин 40 с (30 циклов), при 72 °С – 10 мин (1 цикл), получали ампликоны размером 1629 п. н., которые обрабатывали определенными ферментами рестрикции (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Видовая идентификация бактерий рода *Rhodococcus* на основании рестрикционного анализа генов *groEL*

Table 4. Species specific identification of bacteria of the genus *Rhodococcus* based on restriction analysis of *groEL* genes

Вид	Видовая идентификация		Группа
	Фермент	Сайты рестрикции	
<i>R. hoagii</i>	<i>SinI</i>	91, 186, 276, 633, 687, 1266, 1449	A
<i>R. pyridinivorans</i>	<i>RseI</i>	0	B
<i>R. biphenylivorans</i>	<i>RseI</i>	937	
<i>R. rhodochrous</i>	<i>BglI</i>	370, 823, 1333	
<i>R. coprophilus</i>	<i>BglI</i>	379, 823, 1108, 1264	
	<i>SinI</i>	186, 633, 687	
<i>R. aetherivorans</i>	<i>NarI</i>	131, 206, 431	
	<i>SinI</i>	186, 687, 1395, 1449	
<i>R. ruber</i>	<i>NarI</i>	131, 206, 431, 1139, 1460	
	<i>SinI</i>	186, 687, 1449	
<i>R. opacus*</i>	<i>SinI</i>	130, 294, 684, 1077	C
<i>R. koreensis*</i>	<i>SinI</i>	294, 342, 636, 684, 763, 1626	
	<i>NarI</i>	206, 1583, 1594	
<i>R. wratislaviensis*</i>	<i>SinI</i>	130, 294, 311, 684, 1077	
<i>R. jostii*</i>	<i>NarI</i>	206, 326, 1583	
	<i>SfiI</i>	370, 823, 1108	
<i>R. imtechensis</i>	<i>NarI</i>	326, 1594	D
<i>R. erythropolis</i>	<i>BsrI</i>	717, 1274	
<i>R. qingshengii</i>	<i>BsrI</i>	296, 717, 1274	
<i>R. fascians</i>	<i>SinI</i>	687, 1449	E
	<i>NarI</i>	0	

П р и м е ч а н и е. * – видовая идентификация определяется на основании рестрикционного анализа продуктов амплификации генов *groEL3* размером 1629 п. н.

Таким образом, анализ генов и кодируемых ими белков GroEL бактерий рода *Rhodococcus* позволил установить возможность использования данных детерминант в качестве молекулярно-генетических маркеров для видовой идентификации. Разработана схема, с помощью которой на основании рестрикционного анализа продуктов ПЦР генов *groEL2* и *groEL3* с использованием рестриктаз *BglI*, *NarI*, *SfiI*, *SinI*, *RseI* и *BsrI* устанавливается видовая принадлежность природных бактерий рода *Rhodococcus*. При этом рестрикционный анализ генов *groEL2* отдельных представителей этого рода позволяет сразу идентифицировать их до вида в результате однократной обработки ферментами *BglI* (*R. rhodochrous*), *NarI* (*R. coprophilus*, *R. aetherivorans*, *R. ruber*, *R. imtechensis*) и *SfiI* (*R. jostii*). Отдельно следует отметить, что рестрикцию генов *groEL2* ферментом *SinI* можно использовать для выявления патогенных бактерии *R. fascians* и *R. hoagii* (синоним *R. equi*) (см. табл. 3, 4).

На следующем этапе работы проводили анализ систем адаптации бактерий *R. pyridinivorans* 5Ar. Данный штамм представляет большой практический интерес, поскольку способен утилизировать широкий спектр органических соединений в условиях стресса (повышенная температура, высокая осмолярность, экстремальные значения pH и др.) и может быть использован для очистки от загрязнений природного и антропогенного происхождения в экстремальной окружающей

среде [16]. Наличие полной нуклеотидной последовательности генома данных бактерий [17] позволяет выявить особенности его генетической организации, в том числе систем адаптации, а также установить наличие уникальных генетических детерминант, пригодных для молекулярного типирования при его коммерческом использовании. Следует отметить, что детальное изучение генетических систем адаптации данных микроорганизмов представляет интерес не только с точки зрения понимания фундаментальных процессов, происходящих в клетке под действием стресса, но и с позиции поиска новых подходов к вопросам повышения толерантности штаммов-деструкторов в условиях, далеких от физиологической нормы.

В результате детального анализа генома было выявлено 52 локуса, определяющих устойчивость бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap к стрессовым условиям среды (49 структурных и 4 регуляторных гена, детерминирующих синтез 23 белков теплового шока, 9 универсальных стрессовых белков, 17 цитохромов P450). Транскрипция данных генетических детерминант может обеспечиваться РНК-полимеразой, в состав которой входят специфические сигма-факторы (всего выявлено 18 хромосомных и 1 плазмидный ген, кодирующие данные белки). Большинство аннотированных генов, а также кодируемые ими белки идентичны на 99–100 % с гомологичными последовательностями других известных бактерий *R. pyridinivorans* и некоторых близкородственных видов (в частности, *R. rhodochrous* и *R. biphenylivorans*). Отдельные структурные гены входили в состав оперонов. Например, в хромосоме бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap находится 2 оперона *dnaK-grpE-dnaJ*. В состав первого оперона входит 4 гена *dnaK*, *grpE*, *dnaJ*, а также ген *hspR*, кодирующий белок транскрипционного регулятора. Гены, входящие в состав данного оперона, а также в кодируемые ими белки, идентичны на 99–100 % с таковыми известных представителей *R. pyridinivorans* и одного штамма *R. biphenylivorans* TG9. Второй оперон, представленный пятью генами (дополнительно входит ген *clpB*, определяющий синтез протеазы, разрушающей инактивированные белковые агрегаты), является более консервативным, а входящие в его состав гены, а также кодируемые ими белки идентичны на 99–100 % с гомологичными последовательностями бактерий рода *Rhodococcus*, *Gordonia* и *Nocardia*. Следует отметить, что второй оперон в хромосоме бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap локализован рядом с мобильным генетическим элементом, что может способствовать процессу его горизонтального переноса между микроорганизмами разных систематических групп. Кроме того, перед *groESL*-опероном в хромосоме бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap (координаты 3 555 670–3 557 670 п. н.) локализован геном бактериофага размером около 42 тыс. п. н. Причем перед генами фагового происхождения находятся детерминанты, кодирующие сайт-специфическую рекомбиназу XerD (координаты 3 557 883–3 558 916 п. н.) и тирозиновую рекомбиназу XerC (координаты 356 021–3 561 190 п. н.). Указанные детерминанты в хромосоме бактерий *R. pyridinivorans* SB3094 находятся далеко друг от друга и от *groELS*-оперона (координаты гена, кодирующего XerD: 384 229–385 140 п. н.; координаты гена, кодирующего тирозиновую рекомбиназу XerC: 233 173–234 111 п. н.). Данный факт весьма примечателен и свидетельствует о том, что в хромосоме бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap перед *groESL*-оперонами локализуются горячие точки рекомбинации и встроены геном профага. Эти генетические локусы могут обеспечивать изменения в геноме, причем непосредственно рядом с *groESL*-опероном, играющим важную роль в адаптации бактерий в стрессовых условиях среды.

Среди охарактеризованных детерминант выявлены уникальные нуклеотидные последовательности плазмидного и хромосомного происхождения, кодирующие синтез белков теплового шока DnaK (один плазмидный ген) и цитохромов P450 (два хромосомных и один плазмидный) (табл. 5). В эту группу включен хромосомный ген, кодирующий синтез цитохрома P450, нуклеотидная последовательность которого на 99 % сходна с таковой гена бактерий *R. pyridinivorans* SB3094 (CP006996.1) в двух участках (1–458, 697–1038 п. н.). Последовательность между 458-м и 697-м нуклеотидом у бактерий данного вида отсутствует. Следует отметить, что в состав этого фрагмента входят аминокислоты (от 153 до 233), характерные для домена, определяющего метаболизм ксенобиотиков. В целом данный белок идентичен таковому бактерий *R. pyridinivorans* только на 78 %. Две другие детерминанты плазмидного и хромосомного происхождения, кодирующие синтез цитохромов, имели сходство с гомологичными последовательностями бактерий более отдаленных таксономических групп (*Kutzneria albida* и *Gordonia rubripertincta*) (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. Уникальные детерминанты системы адаптации бактерий *R. pyridinivorans* 5ApT a b l e 5. Unique determinants of the bacterial adaptation system of *R. pyridinivorans* strain 5Ap

Ген	Координаты	Размер, п. н.	Сходство с известными последовательностями бактерий			
			гена	%	белка	%
<i>dnaK</i>	63 397–65 241(Node 22)	1845	Нет сходства		<i>R. pyridinivorans</i> (WP_082331874.1)	100
<i>p450*</i>	808 662–809 699	1038	<i>R. pyridinivorans</i> SB3094(CP006996.1)	99	<i>R. pyridinivorans</i> (WP_060651923.1)	78
<i>p450</i>	4 925 260–4 926 471	1212	<i>G. rubripertincta</i> CWB2 (CP022580.1)	91	<i>G. rubripertincta</i> (WP_005196845.1)	93
<i>p450</i>	93 920–95 323 (17Nod)	1404	<i>K. albida</i> DSM43870 (CP007155.1) 559 п. н. на 3'-конце	72	<i>R. wratislaviensis</i> (WP_005564713.1)	90

П р и м е ч а н и е. * – ген на 99 % идентичен гомологичному гену бактерий *R. Pyridinivorans* SB3094 в области между 1–458 и 697–1038 п. н.

Заклучение. Таким образом, в составе генома биотехнологического штамма бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap содержится большое число генов, продукты которых являются белками систем адаптации. Среди аннотированных детерминант выявлены уникальные генетические детерминанты, которые могут быть использованы для молекулярного типирования данных бактерий.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Биотехнологии», 2016–2020 гг., подпрограмма «Микробные биотехнологии», задание 3.36.

Acknowledgements. The work is done within the framework of the subprogram “Microbial Biotechnology” of the State Program of Scientific Research “Biotechnology” for 2016–2020 (project 3.36).

Список использованных источников

1. Solyanikova, I. Biochemical features of the degradation of pollutants by *Rhodococcus* as a basis for contaminated wastewater and soil cleanup / I. Solyanikova, L. Golovleva // Mikrobiologiya. – 2011. – Vol. 80, N 5. – P. 591–607. <https://doi.org/10.1134/s0026261711050158>
2. The genus *Rhodococcus* / K. S. Bell [et al.] // UK J. Appl. Microbiol. – 1998. – Vol. 85, N 2. – P. 195–210. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00525.x>
3. Majidzadeh, M. Current taxonomy of *Rhodococcus* species and their role in infections / M. Majidzadeh, M. Fatahi-Bafghi // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2018. – Vol. 37, N 11. – P. 2045–2062. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3364-x>
4. Detection of *vapN* in *Rhodococcus equi* isolates cultured from humans [Electronic resource] / L. K. Bryan [et al.] // PLoS ONE. – 2018. – Vol. 13, N 1. – P. e0190829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190829>
5. Identification and mutagenesis by allelic exchange of *choE*, encoding a cholesterol oxidase from the intracellular pathogen *Rhodococcusequi* / J. Navas[et al.] // J. Bacteriol. – 2001. – Vol. 183, N 16. – P. 4796–4805. <https://doi.org/10.1128/jb.183.16.4796-4805.2001>
6. Rapid identification of *Rhodococcus equi* by a PCR assay targeting the *choE* gene / N. Ladrón [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, N 7. – P. 3241–3245. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.7.3241-3245.2003>
7. Applicability of the functional gene catechol 1,2-dioxygenase as a biomarker in the detection of BTEX-degrading *Rhodococcus* species / A. Táncsics [et al.] // J. Appl. Microbiol. – 2008. – Vol. 105, N 4. – P. 1026–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03832.x>
8. Duquesne, F. Development of a multilocus sequence typing scheme for *Rhodococcus equi* / F. Duquesne // Vet. Microbiol. – 2017. – Vol. 210. – P. 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.08.010>
9. Identification and environmental detection of *Rhodococcus* species by 16S rDNA-targeted PCR / K. S. Bell [et al.] // J. Appl. Microbiol. – 1999. – Vol. 87, N 4. – P. 472–480. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00824.x>
10. Sequence analysis of 16S rRNA, *gyrB* and *catA* genes and DNA–DNA hybridization reveal that *Rhodococcus jialingiae* is a later synonym of *Rhodococcus qingshengii* / A. Táncsics [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2014. – Vol. 64, N 1. – P. 298–301. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.059097-0>
11. Next-generation systematics: An innovative approach to resolve the structure of complex prokaryotic taxa / V. Sangal [et al.] // Sci. Reports. – 2016. – Vol. 6. – Art. 38392. <https://doi.org/10.1038/srep38392>
12. Ruiz-González, M. X. Coevolution analyses illuminate the dependencies between amino acid sites in the chaperonin system GroES-L / M. X. Ruiz-González, M. A. Fares // BMC Evol. Biol. – 2013. – Vol. 13, N 1. – P. 156. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-156>

13. Transcriptional analysis of the *groES–groEL1*, *groEL2*, and *dnaK* genes in *Corynebacterium glutamicum*: characterization of heat shock-induced promoters / C. Barreiro [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2004. – Vol. 186, N 14. – P. 4813–4817. <https://doi.org/10.1128/jb.186.14.4813-4817.2004>

14. A mycobacterium tuberculosis mutant lacking the *groEL* homologue *cpn60.1* is viable but fails to induce an inflammatory response in animal models of infection / Y. Hu [et al.] // *Infect. Immun.* – 2008. – Vol. 76, N 4. – P. 1535–1546. <https://doi.org/10.1128/iai.01078-07>

15. GroEL1: a dedicated chaperone involved in mycolic acid biosynthesis during biofilm formation in mycobacteria / A. Ojha [et al.] // *Cell.* – 2005. – Vol. 123, N 5. – P. 861–873. <https://doi.org/10.3410/f.1030372.358632>

16. Консорциум термотолерантных бактериальных штаммов для деградации нефти и нефтепродуктов в грунтах и водах в условиях жаркого климата: пат. 2617941 РФ: МПК С12N1/20, В09С1/10, С02F3/34, С12R1/01 (2015). М., 2015. – Я. А. Делеган, А. А. Ветрова, М. И. Чернявская, М. А. Титок, А. А. Иванова, А. Е. Филонов, А. М. Боронин. Дата публ. 28.04.2017.

17. Первичный анализ генома бактерий – деструкторов нефти *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap / М. И. Чернявская [и др.] // *Тр. БГУ. Сер. : Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем.* – 2016. – Т. 11, № 1. – С. 219–223.

References

1. Solyanikova I., Golovleva L. Biochemical features of the degradation of pollutants by *Rhodococcus* as a basis for contaminated wastewater and soil cleanup. *Mikrobiologiya*, 2011, vol. 80, no. 5, pp. 591–607. <https://doi.org/10.1134/s0026261711050158>

2. Bell K. S., Philp J. C., Aw D. W. J., Christofi N. The genus *Rhodococcus*. *UK Journal of Applied Microbiology*, 1998, vol. 85, no. 2, pp. 195–210. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00525.x>

3. Majidzadeh M., Fatahi-Bafghi M. Current taxonomy of *Rhodococcus* species and their role in infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2018, vol. 37, no. 11, pp. 2045–2062. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3364-x>

4. Bryan L. K., Alexander E. R., Lawhon S. D., Cohen N. D. Detection of *vapN* in *Rhodococcus equi* isolates cultured from humans. *PLoS ONE*, 2018, vol. 13, no. 1, p. e0190829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190829>

5. Navas J., González-Zorn B., Ladrón N., Garrido P., Vázquez-Boland J. A. Identification and mutagenesis by allelic exchange of *choE*, encoding a cholesterol oxidase from the intracellular pathogen *Rhodococcus equi*. *Journal of Bacteriology*, 2001, vol. 183, no. 16, pp. 4796–4805. <https://doi.org/10.1128/jb.183.16.4796-4805.2001>

6. Ladrón N., Fernández M., Agüero J., Zorn B. G., Vázquez-Boland J. A., Navas J. Rapid identification of *Rhodococcus equi* by a PCR assay targeting the *choE* gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, vol. 41, no. 7, pp. 3241–3245. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.7.3241-3245.2003>

7. Tánicsics A., Szoboszlai S., Kriszt B., Kukolya J., Baka E., Márialigeti K., Révész S. Applicability of the functional gene catechol 1, 2-dioxygenase as a biomarker in the detection of BTEX-degrading *Rhodococcus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, vol. 105, no. 4, pp. 1026–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03832.x>

8. Duquesne F., Houssin E., Sévin C., Duytschaever L., Tapprest J., Fretin D., Hébert L., Laugier C., Petry S. Development of a multilocus sequence typing scheme for *Rhodococcus equi*. *Veterinary Microbiology*, 2017, vol. 210, pp. 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.08.010>

9. Bell K. S., Kuyukina M. S., Heidbrink S., Philp J. C., Aw D. W. J., Ivshina I. B., Christofi N. Identification and environmental detection of *Rhodococcus* species by 16S rDNA-targeted PCR. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, vol. 87, no. 4, pp. 472–480. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00824.x>

10. Tánicsics A., Benedek T., Farkas M., Máthé I., Márialigeti K., Szoboszlai S., Kukolya J., Kriszt B. Sequence analysis of 16S rRNA, *gyrB* and *catA* genes and DNA–DNA hybridization reveal that *Rhodococcus jialingiae* is a later synonym of *Rhodococcus qingshengii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, vol. 64, no. 1, pp. 298–301. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.059097-0>

11. Sangal V., Goodfellow M., Jones A. L., Schwalbe E. C., Blom J., Hoskisson P. A., Sutcliffe I. C. Next-generation systematics: an innovative approach to resolve the structure of complex prokaryotic taxa. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, art. 38392. <https://doi.org/10.1038/srep38392>

12. Ruiz-González M. X., Fares M. A. Coevolution analyses illuminate the dependencies between amino acid sites in the chaperonin system GroES–L. *BMC Evolutionary Biology*, 2013, vol. 13, no. 1, p. 156. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-156>

13. Barreiro C., González-Lavado E., Pátek M., Martín J.-F. Transcriptional analysis of the *groES–groEL1*, *groEL2*, and *dnaK* genes in *Corynebacterium glutamicum*: characterization of heat shock-induced promoters. *Journal of Bacteriology*, 2004, vol. 186, no. 14, pp. 4813–4817. <https://doi.org/10.1128/jb.186.14.4813-4817.2004>

14. Hu Y., Henderson B., Lund P. A., Tormay P., Ahmed M. T., Gurcha S. S., Besra G. S., Coates A. R. M. A mycobacterium tuberculosis mutant lacking the *groEL* homologue *cpn60.1* is viable but fails to induce an inflammatory response in animal models of infection. *Infection and Immunity*, 2008, vol. 76, no. 4, pp. 1535–1546. <https://doi.org/10.1128/iai.01078-07>

15. Ojha A., Anand M., Bhatt A., Kremer L., Jacobs W. R., Hatfull G. F. GroEL1: a dedicated chaperone involved in mycolic acid biosynthesis during biofilm formation in mycobacteria. *Cell*, 2005, vol. 123, no. 5, pp. 861–873. <https://doi.org/10.3410/f.1030372.358632>

16. Delegan Ya. A., Vetrova A. A., Chernyavskaya M. I., Titok M. A., Ivanova A. A., Filonov A. E., Boronin A. M. Thermotolerant bacterial strains consortium for oil and oil products degradation in soil and waters in hot climates: Patent RF, no. 2617941, 2017.

17. Chernyavskaya M. I., Buklyarevich A. A., Okhremchuk A. E., Valentovich L. N., Titok M. A. Primary analysis of the genome of oil-degrading bacteria *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funktsionirovaniya biosistem* [Proceedings of the Belarusian State University. Series: Physiological, biochemical and molecular foundations of the functioning of biosystems], 2016, vol. 11, no. 1, pp. 219–223 (in Russian).

Информация об авторах

Букляревич Анна Александровна – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bukliarevich@bsu.by, <https://orcid.org/0000-0003-3643-1366>

Титок Марина Алексеевна – д-р биол. наук, профессор. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ma_titok@bsu.by, <https://orcid.org/0000-0002-8623-5083>

Information about the authors

Hanna A. Bukliarevich – Junior Researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bukliarevich@bsu.by, <https://orcid.org/0000-0003-3643-1366>

Marina A. Titok – D. Sc. (Biol.), Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ma_titok@bsu.by, <https://orcid.org/0000-0002-8623-5083>

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 60:364.737:581.557.24

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-37-41>

Поступила в редакцию 11.09.2020

Received 11.09.2020

Я. С. Камельчук¹, Н. А. Ламан²

¹Полесский государственный университет, Пинск, Республика Беларусь

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

ВЛИЯНИЕ МИКОРИЗАЦИИ РЕГЕНЕРАНТОВ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ НА ЭТАПЕ ИХ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ *EX VITRO* НА СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОРА В РАСТЕНИЯХ

Аннотация. Проанализировано влияние микоризации регенерантов голубики высокорослой на этапе их адаптации к условиям *ex vitro* на содержание фосфора в растениях. Установлено, что у голубики сортов Блюкроп и Патриот после инокуляции микоризными грибами *Phialocephala fortinii* и *Pezizula sp.* через 2,5 мес. содержание общего фосфора значительно превышает показатели контрольных значений у обоих сортов и у растений, инокулированных обоими грибами. Показано также, что благодаря образовавшейся микоризе у адаптантов возрастает способность поглощения фосфора из почвы.

Ключевые слова: микоризные грибы, микоризация, фосфорное питание, голубика высокая, микроклональное размножение, *ex vitro*

Для цитирования: Камельчук, Я. С. Влияние микоризации регенерантов голубики высокорослой на этапе их адаптации к условиям *ex vitro* на содержание фосфора в растениях / Я. С. Камельчук, Н. А. Ламан // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 37–41. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-37-41>

Yanina S. Kamelchuk¹, Nikolai A. Laman²

¹Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

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

INFLUENCE OF MYCORRHIZATION OF HIGH BLUEBERRY REGENERANTS AT THE STAGE OF THEIR ADAPTATION TO *EX VITRO* CONDITIONS ON PHOSPHORUS CONTENT IN PLANTS

Abstract. The effect of mycorrhization of regenerants blueberries at the stage of adaptation to *ex vitro* conditions on the phosphorus content in plants was analyzed. It was found that in blueberry varieties Bluerop and Patriot, after inoculation with the mycorrhizas fungi *Phialocephala fortinii* and *Pezizula sp.* after 2.5 months, the content of total phosphorus in plants significantly exceeds the control values in both varieties and with both mushrooms. In adapters, due to the formed mycorrhiza, the ability to absorb phosphorus from the soil increases.

Keywords: mycorrhizas-fungi, mycorrhization, phosphorus nutrition, high blueberry, micropropagation, *ex vitro*

For citation: Kamelchuk Ya. S., Laman N. A. Influence of mycorrhization of high blueberry regenerants at the stage of their adaptation to *ex vitro* conditions on phosphorus content in plants. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 37–41 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-37-41>

Введение. Семейству Вересковые присуща микориза арбутоидная и эрикоидная [1], при этом грибной партнер вносит существенный вклад в обеспечение растения элементами минерального питания [2]. Наиболее сильно образование микоризы влияет на фосфорное питание. Фосфор необходим обоим партнерам в относительно больших количествах, поскольку входит в состав важнейших органических соединений: нуклеиновых кислот, АТФ, фосфолипидов, фосфорилированных белков и углеводов. Голубика произрастает на кислых почвах, где фосфор присутствует в форме иона ортофосфорной кислоты ($H_2PO_4^-$), который в свою очередь образует слабодоступные для растения нерастворимые соединения с находящимися в почве катионами железа, кальция или алюминия [3]. Грибы, образующие микоризу, играют важную роль в обеспечении фосфором

растений, находящихся с ними в симбиозе. Это связано со способностью клеток грибов к концентрированию ортофосфата из почв путем растворения минеральных фосфорных соединений за счет выделения в среду органических кислот [4].

В микоризированных корнях потребность растения в фосфоре может регулировать также активность переносчиков фосфора в грибе и переход этого элемента из мицелия в растение [5].

Особый интерес к микоризным грибам возникает при микроклональном размножении растений. Поскольку данный метод размножения предполагает получение только стерильных регенерантов, то на этапе их адаптации к условиям роста *ex vitro* необходимо возвращать микоризообразователи путем инокуляции или используя микоризные подкормки на этапе формирования зрелого растения.

Предполагается, что для решения такой актуальной задачи, как оптимизация фосфорного питания голубики высокорослой, необходимо увеличить доступность фосфора и повысить эффективность его использования растениями-адаптантами.

Цель данного исследования – изучение влияния микоризации регенерантов на содержание фосфора в голубике высокорослой.

Материалы и методы исследования. В эксперименте были использованы регенеранты голубики высокорослой сортов Блюкроп и Патриот научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве Полесского государственного университета. Микоризные грибы *Phialocephala fortinii* и *Pezicula sp.* были выделены из аборигенного вида черники (*Vaccinium myrtillus* L.) из естественной ценопопуляции, произрастающей в Барановичском районе.

Для микоризации готовили грибной инокулюм. Вначале отобранные чашки Петри с образцами штаммов вскрывали под ламинаром, где из краевой зоны культуры гриба-микоризообразователя, развившейся на агаризованной питательной среде, с помощью стерильного скальпеля вырезали пробки размером 5×5 мм, которые в количестве четырех штук вносили в плоскодонную колбу объемом 250 мл с питательной картофельно-глюкозной средой объемом 100 мл. Культивирование грибов проводили на шейкере при 100 об/мин при температуре +26 °С. Через 10 дней биомассу гриба путем фильтрования отделяли от культуральной жидкости, отбирали 1 г биомассы и растирали ее в ступе с небольшим количеством стерильной воды. Полученную суспензию разводили в 1000 мл дистиллированной воды и использовали в качестве инокулюма [6–8].

Для изучения влияния микоризации на содержание фосфора в растениях голубики высокорослой брали стерильные укорененные регенеранты голубики, отмывали их от остатков питательной среды, замачивали в приготовленном инокулюме и высаживали в кассеты, заполненные торфяным субстратом. Кассеты с адаптантами накрывали полиэтиленовой пленкой, создавая условия повышенной влажности до появления новых молодых листочков. Растения ежедневно опрыскивали водопроводной водой. Растения выращивали при освещенности 3000 лк, температуре +20...+23 °С, фотопериоде 16/8 ч.

Через 2,5 мес. растения изымали из грунта и определяли в них содержание общего фосфора, используя метод Дениже [9, 10]. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре, а затем по калибровочному графику находили соответствующее значение концентрации. Содержание общего фосфора (мг/100 г вещества) определяли по формуле

$$P_2O_5 = aD_x V \cdot 100 / D_{\text{эт}} V_1 n,$$

где a – концентрация раствора (образец), оптическая плотность которого близка к плотности испытуемого раствора; D_x – оптическая плотность испытуемого раствора; $D_{\text{эт}}$ – оптическая плотность эталонного раствора; V – общий объем вытяжки, мл; V_1 – объем вытяжки, взятый на определение с учетом разбавления, мл; n – навеска растительного вещества в граммах; 100 – коэффициент пересчета на 100 г вещества.

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0, используя ANOVA и критерий Дункана ($p < 0,01$) для сравнения средних значений ($n = 5$). В табл. 1 данные приведены в виде среднего значения ± средняя статистическая ошибка. Построение графика проводили

в программе Microsoft Excel [11]. Для дисперсионного анализа данных и расчета доли влияния факторов на содержание общего фосфора использовали программу статистического анализа AV-Stat 1.0, разработанную в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси (табл. 2) [12].

Т а б л и ц а 1. Влияние инокуляции регенерантов голубики высокорослой на содержание общего фосфора в растениях

Table 1. Effect of inoculation of regenerants blueberry high on the total phosphorus content in plants

Сорт	Штамм	P, мг/100 г	НСР _{0,05}	НСР _{0,01}
Блюкроп	Контроль	1,28 ± 0,01	0,08	0,11
	<i>Phialocephala fortinii</i>	1,95 ± 0,05**		
	<i>Pezicula sp.</i>	1,66 ± 0,01**		
Патриот	Контроль	1,36 ± 0,06		
	<i>Phialocephala fortinii</i>	2,19 ± 0,07**		
	<i>Pezicula sp.</i>	1,63 ± 0,02**		

П р и м е ч а н и е. Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка средней. Контроль – отсутствие штаммов грибов-микорризообразователей, НСР_{0,05}, НСР_{0,01} – наименьшая существенная разница при $p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно. Здесь и в табл. 2 полужирным шрифтом выделены значения, достоверно отличающиеся от контрольных (** – достоверность отличий при $p < 0,01$).

Т а б л и ц а 2. Двухфакторный дисперсионный анализ содержания общего фосфора у адаптантов *ex vitro* голубики высокорослой, инокулированных микорризовыми грибами

Table 2. Two-way analysis of variance for total phosphorus in *ex vitro* adapters of blueberry high inoculated with mycorrhizal fungi

Показатель	df	СК	ДВ, %
Общее	29	0,110	100,000
Фактор А	1	0,066**	2,055
Фактор В	2	1,431**	89,375
А×В	2	0,050**	3,103
Повторности	4	0,005	0,657
Случайные отклонения	20	0,008	4,810

П р и м е ч а н и е. *df* – число степеней свободы, СК – средний квадрат, ДВ – доля влияния фактора (по Плохинскому), фактор А – сорта голубики высокой (Блюкроп, Патриот), фактор В – штаммы грибов-микорризообразователей (*Phialocephala fortinii*, *Pezicula sp.*, контроль).

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что через 2,5 мес. у растений, инокулированных микорризовыми грибами *Phialocephala fortinii* и *Pezicula sp.*, содержание общего фосфора достоверно превышает показатели контрольных вариантов у обоих сортов и у растений, инокулированных обоими грибами (см. табл. 1).

Благодаря симбиозу с микорризовыми грибами поглощение неорганического фосфора корневой системой было выше, чем у контрольных растений, не инокулированных микорризовыми грибами (рис. 1). Содержание общего фосфора в адаптантах голубики высокорослой достоверно увеличилось: у сорта Блюкроп с грибом *Phialocephala* – на 52 %, с грибом *Pezicula* – на 30 % по отношению к контролю; у сорта Патриот – в 1,6 и 1,2 раза соответственно.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние всех факторов и их комбинаций на общее содержание фосфора в растениях голубики высокорослой. При этом установлено, что фактор В (штаммы грибов микорризообразователей) оказывает наибольшее влияние на содержание фосфора в адаптантах (см. табл. 2).

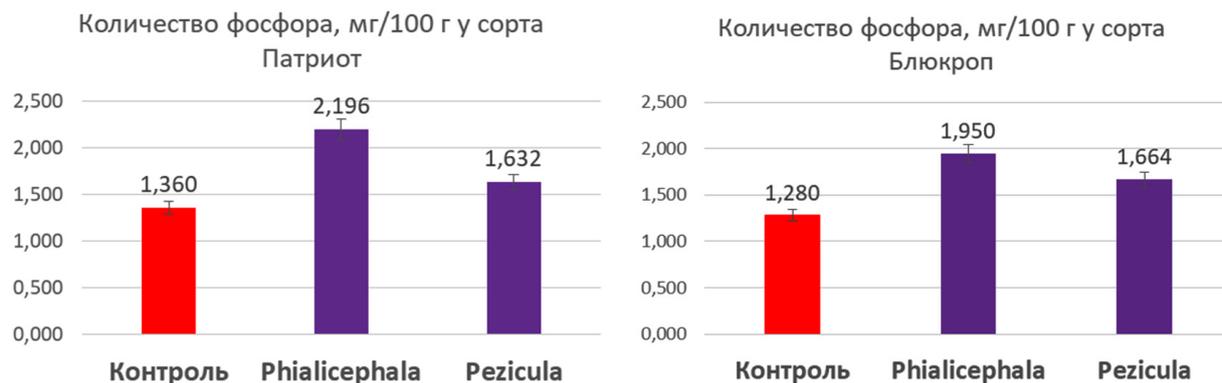


Рис. 1. Содержание общего фосфора в растениях голубики через 2,5 мес. после инокуляции

Fig. 1. The content of total phosphorus in blueberry plants 2.5 months after inoculation



Рис. 2. Адаптанты через 2,5 мес.: слева – контроль, справа – после инокуляции

Fig. 2. Adapters after 2.5 months: left control, right – after inoculation

Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод, что в результате инокуляции у регенерантов формируется микориза, в которой накапливаются неорганические поли- и ортофосфаты. Микросклеротии микоризного гриба поглощают неорганические полифосфаты на ранней стадии взаимодействия с корнями растения, после чего для обеспечения находящегося в симбиозе с грибом растения фосфатом происходит их локальный гидролиз.

Поступающий в растения фосфор с момента посадки адаптантов усиливает рост корневой системы, вследствие чего возрастает обеспеченность растений питательными веществами, в первую очередь фосфором из почвы.

Микоризация голубики высокорослой на этапе перехода к условиям *ex vitro* значительно повышает устойчивость и минеральное питание адаптантов. Растения, инокулированные микоризными грибами, демонстрируют выраженный положительный ростовой ответ на колонизацию корней грибным мицелием и повышенное содержание фосфора, при этом поглощение фосфора усиливается в большей степени, чем других элементов питания (рис. 2).

Заключение. Согласно результатам исследования, инокуляция микромицетами *Phialocephala fortinii* и *Pezicula sp.*, представляющих собой грибы с высокой микоризообразовательной способностью, позволяет значительно улучшить доступность питательных элементов, в первую очередь фосфора, для растений голубики высокорослой. Полученные данные представляют практический интерес в плане создания на основе изученных штаммов грибов биопрепаратов для микоризации посадочного материала ягодных культур семейства Вересковые.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Pearson, V. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. I. The isolation of the endophyte and synthesis of mycorrhizas in aseptic culture / V. Pearson, D. J. Read // *New Phytologist*. – 1973. – Vol. 72, N 2. – P. 371–379. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1973.tb02044.x>
2. Pearson, V. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. II. The transport of carbon and phosphorus by the endophyte and the mycorrhiza / V. Pearson, D. J. Read // *New Phytologist*. – 1973. – Vol. 72, N 6. – P. 1325–1331. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1973.tb02110.x>
3. Швартау, В. В. Особенности реакций растений на дефицит фосфора / В. В. Швартау, Б. И. Гуляев, А. Б. Карлова // *Физиология и биохимия культ. растений*. – 2009. – Т. 41, № 3. — С. 208–220.
4. Plassard, C. Phosphorus nutrition of mycorrhiza / C. Plassard, B. Dell // *Tree Physiol*. – 2010. – Vol. 30, N 9. – P. 1129–1139. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq063>
5. Schachtman, D. P. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell / D. P. Schachtman, R. J. Reid, S. M. Ayling // *Plant Physiol*. – 1998. – Vol. 116, N 2. – P. 447–453. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.447>
6. Литвинов, М. А. Методы изучения почвенных микроскопических грибов / М. А. Литвинов. – Л. : Наука, 1969. – 121 с.
7. Звягинцев, Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д. Г. Звягинцев. – М. : МГУ, 1991. – 302 с.
8. Камельчук, Я. С. Особенности выделения и культивирования *in vitro* эндомикоризных грибов из корней представителей семейства вересковых (*Ericaceae juss.*) / Я. С. Камельчук, Н. А. Ламан // *Ботаника (исследования)*. – 2018. – Вып. 47. – С. 110–115.
9. Лобанкова, О. Ю. Учебное пособие по экологической агрохимии / О. Ю. Лобанкова, А. Н. Есаулко, В. В. Агеев. – Ставрополь : Ставроп. гос. аграр. ун-т, 2014. – 173 с.
10. Методы биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Л. : Колос, 1972. – 456 с.
11. Боровиков, В. П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере / В. П. Боровиков. – СПб. : Изд. дом «Питер», 2001. – 650 с.
12. Анощенко, Б. Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б. Ю. Анощенко // *Генетика*. – 2004. – Т. 30. – С. 8–9.

References

1. Pearson V., Read D. J. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. I. The isolation of the endophyte and synthesis of mycorrhizas in aseptic culture. *New Phytologist*, 1973, no. 2, pp. 371–379. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1973.tb02044.x>
2. Pearson V., Read D. J. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. II. The transport of carbon and phosphorus by the endophyte and the mycorrhiza. *New Phytologist*, 1973, no. 6, pp. 1325–1331. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1973.tb02110.x>
3. Shvartau V. V., Gulyaev B. I., Karlova A. B. Features of plant responses to phosphorus deficiency. *Fiziologiya i biokhimiya kul'turnykh rastenii* [Physiology and biochemistry of cultivated plants], 2009, vol. 41, no. 3, pp. 208–220 (in Russian).
4. Plassard C., Dell B. Phosphorus nutrition of mycorrhiza. *Tree Physiology*, 2010, vol. 30, no. 9, pp. 1129–1139. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq063>
5. Schachtman D. P., Reid R. J., Ayling S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiology*, 1998, vol. 116, no. 2, pp. 447–453. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.447>
6. Litvinov M. A. *Methods for studying soil microscopic fungi*. Leningrad, Nauka Publ., 2009. 121 p. (in Russian).
7. Zvyagintsev D. G. *Methods of soil microbiology and biochemistry*. Moscow, Moscow State University, 1991. 302 p. (in Russian).
8. Kamel'chuk Ya. S., Laman N. A. Features of cultivation *in vitro* endomycorized mushrooms from the roots of the heather family (*Ericaceae juss.*). *Botanika (issledovaniya)* [Botany (research)], 2018, vol. 47, pp. 110–115 (in Russian).
9. Lobankova O. Yu., Esaulko A. N., Ageev V. V. *Textbook on ecological agrochemistry*. Stavropol', Stavropol', State Agrarian University, 2014. 173 p. (in Russian).
10. Ermakov A. I. (ed.). *Biochemical research methods of plants. 2nd ed.* Leningrad, Kolos Publ., 1972. 456 p. (in Russian).
11. Borovikov V. P. *STATISTICA: the art of data analysis on a computer*. Sankt-Petersburg, Publishing house "Piter", 2001. 650 p. (in Russian).
12. Anoshenko B. Yu. Analysis and optimization programs for plant breeding. *Genetika* [Genetics], 2004, vol. 30, pp. 8–9 (in Russian).

Информация об авторах

Камельчук Янина Степановна – магистр биол. наук, аспирант. Полесский государственный университет (ул. Днепровской флотилии, 23, 225710, г. Пинск, Республика Беларусь). E-mail: yaninacamal@gmail.com

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

Information about the authors

Yanina S. Kamelchuk – Master of biological sciences, Postgraduate student. Polesky State University (23, Dneprovskaya flotiliya Str., 225710, Pinsk, Republic of Belarus). E-mail: yaninacamal@gmail.com

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (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: nikolai.laman@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 581.1.03:535.2
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-42-52>

Поступила в редакцию 22.06.2020
Received 22.06.2020

Т. Н. Куделина¹, А. С. Кривобок², Т. Н. Бибилова³, О. В. Молчан¹

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

²*Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Российская Федерация*

³*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация*

ОСОБЕННОСТИ ФОТОМОРФОГЕНЕЗА *ARABIDOPSIS THALIANA* В УСЛОВИЯХ LED-ОСВЕЩЕНИЯ РАЗЛИЧНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА

Аннотация. В работе применена ранее разработанная в Институте медико-биологических проблем РАН методика выращивания растений *Arabidopsis thaliana* Heynh на поверхности гидратцеллюлозной пленки в стерильных условиях на гелевых средах. При этом растения полностью доступны для наблюдения, включая корневую систему, а их листья и корни равномерно освещены. С применением данной методики изучены особенности влияния света с различным соотношением физиологически значимых спектральных диапазонов на морфогенез *A. thaliana*. В спектральном составе LED-облучателей, содержащем все длины волн фотосинтетически активной радиации (ФАР), варьировали соотношение красного света к синему (К/С) от 1 до 5, красного к сине-зеленому (К/(С + З)) от 0,7 до 4,1 и красного к дальнему красному (К/ДК) от 2,6 до 5,6. Люминесцентное освещение с соотношениями К/С, К/(С + З) и К/ДК, равными 2, 1 и 11,9 соответственно, использовали в качестве контрольного. Полученные результаты свидетельствуют о том, что рост надземной части и корневой системы, синтез хлорофилла, накопление сухого вещества *A. thaliana* можно стимулировать, повышая уровень красного и снижая уровень дальнего красного света, а при наличии всех других диапазонов ФАР – достигать определенного их соотношения в спектре LED-освещения. Так, вариант LED-освещения с соотношениями К/С, К/(С + З) и К/ДК, равными 4, 2, и 5,6 соответственно, был наиболее эффективен для накопления сырой и сухой массы надземной части, образования хлорофилла, а также для формирования разветвленной корневой системы. Кроме того, при LED-освещении всех вариантов у растений в среднем на 5–6 дней раньше образовывались соцветия, а их количество было больше, чем при люминесцентном освещении.

Ключевые слова: *A. thaliana*, LED-освещение, спектральный состав, фотосинтетические пигменты, фотоморфозы, вегетативная масса, корневая система, цветение

Для цитирования: Особенности фотоморфогенеза *Arabidopsis thaliana* в условиях LED-освещения различного спектрального состава / Т. Н. Куделина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 42–52. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-42-52>

Tatiana N. Kudelina¹, Anna S. Krivobok², Tatiana N. Bibikova³, Olga V. Molchan¹

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

²*Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

³*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

FEATURES OF *ARABIDOPSIS THALIANA* PHOTOMORPHOGENESIS WHEN USING LED-LIGHTING WITH DIFFERENT SPECTRAL COMPOSITION

Abstract. In this work we applied the technique of growing *A. thaliana* Heynh plants on the surface of a hydrated cellulose film under sterile conditions on the gel environment, which was previously developed at the Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences. Using this technique the plant, including the root system, is fully accessible for observation and its leaves and roots are evenly illuminated. Using this technique, the features of the influence of light with a different ratio of physiologically significant spectral ranges on the morphogenesis of *A. thaliana* were studied. In the LED-irradiators' spectral composition which contained all photosynthetically active radiation (PAR) wavelengths we varied the ratio of red/blue (R/B) light from 1 to 5, red/(blue-green) (R/(B + G)) from 0.7 to 4.1 and red/far red (R/FR) from 2.6 to 5.6. Luminescent lighting with R/B, R/(B + G) and R/FR ratios of 2, 1 and 11.9, respectively, was used as a control. The obtained results indicate that the growth of the aerial part and the root system, the synthesis of chlorophyll, the accumulation of dry matter of *A. thaliana* can be stimulated by increasing the level of red and by decreasing the level of far red light (in the presence of all other parts of PAR), reaching their certain ratio in the spectrum of LED lighting. The most effective spectral composition for the accumulation of dry and wet mass of the aerial part, the synthesizing of chlorophyll as well as for the formation of a branched root system was LED-lighting with R/B, R/(B + G) and R/FR ratios of 4, 2 and 5.6 respectively.

In addition, under LED illumination of all variants, plants formed peduncles on average 5–6 days earlier and their number was greater than under luminescent one.

Keywords: *A. thaliana*, LED lighting, spectral composition, photosynthetic pigments, photomorphoses, vegetative mass, root system, flowering

For citation: Kudelina T. N., Krivobok A. S., Bibikova T. N., Molchan O. V. Features of *Arabidopsis thaliana* photomorphogenesis when using LED-lighting with different spectral composition. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 42–52 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-42-52>

Введение. На рост и развитие растений влияют многочисленные факторы окружающей среды. Температура, свет, обеспеченность водой и гравитация относятся к числу стимулов, которые служат сигналами для активации эндогенных программ растительного организма [1]. Особенно важную роль играет свет, и не только как источник энергии для фотосинтеза, но и как стимул для многих других процессов на всем протяжении жизненного цикла растения. Чувствительность растений к свету во многом обеспечивается с помощью фотоморфогенетических реакций с участием трех основных фоторецепторных систем: фитохромной, криптохромной и системы фототропинов [2–4]. При этом у *Arabidopsis thaliana* в настоящее время насчитывают по меньшей мере 14 фоторецепторов: это 5 фитохромов (PhyA-E), 3 криптохрома (CRY1-3), 2 фототропина (PHOT1, PHOT2), UVR8 и 3 белка семейства LOV/F-box/Kelch-repeat (ZTL, FKF1, LKP2) [5]. Восприятие светового сигнала фоторецептором сопряжено с изменением ионных потоков через клеточные мембраны, биохимическими процессами и экспрессией генов, продукты которых важны для прорастания семян, деэтиляции проростков, фотоморфогенеза, фототропизма, циркадных ритмов и цветения [6–8]. Активность фоторецепторов зависит и от интенсивности, и от спектра света, что указывает на возможность управления рецепторами и запускаемыми ими реакциями через изменение качественного и количественного состава освещения [9, 10].

Красный свет важен для развития фотосинтетического аппарата (ФСА) и ассимиляции крахмала, именно в этой области находятся пики поглощения хлорофиллов *a* и *b* [11]. Синий свет оказывает влияние на синтез хлорофилла, развитие хлоропластов, функционирование устьичного аппарата [12]. Свет в диапазоне 600–700 и 400–500 нм наиболее эффективно поглощается хлорофиллами, поэтому при создании искусственного светодиодного освещения для растений до сих пор преимущественно использовали красные и синие источники света и ключевым считали соотношение К/С [13]. Однако в фотоморфогенезе растений важен свет не только красной и синей, но и других полос спектра, в том числе в зеленой и дальней красной областях.

Изучение особенностей физиолого-биохимических процессов растений, культивируемых с использованием светодиодного (Light Emission Diodes – LED) освещения, является в настоящее время одним из перспективных направлений фундаментальных и прикладных исследований. К основным преимуществам использования светодиодов относят их энергоэффективность и узкий спектр излучения, который позволяет создавать облучатели с оптимальными спектральными параметрами для конкретного вида и физиологического состояния культивируемых растений [14]. Поскольку светом контролируются практически все процессы в растительном организме, использование светоизлучающих диодов перспективно для точного управления физиологическими реакциями растений. Применение LED-освещения позволяет контролировать рост растений, их развитие, накопление биомассы, процессы первичного и вторичного метаболизма. Спектр освещения определяет не только состав продуктов, синтезируемых при фотосинтезе, но и морфологические характеристики органов, например структуру и параметры листовой пластинки, на что указывают многочисленные экспериментальные данные [15–18].

Особое значение имеет адаптация корневой системы к условиям окружающей среды, которая способствует выживанию растений и реализуется путем образования боковых корней. В процессах инициации и роста последних ключевую роль играют фитогормоны ауксин и цитокинин [19]. Однако механизмы и сигналы, которые определяют направление действия ауксина и цитокинина, все еще недостаточно изучены, и имеются данные, что среди этих сигналов значительную роль может играть световой [20]. Известно, что у арабидопсиса сигнал красного света в корнях опосредуют фитохром А и фитохром В [21]. Установлено, что фитохром регулирует

образование боковых корней путем воздействия на распределение ауксина [19, 22]. Эти данные указывают на важную роль светового сигнала в формировании гормонального статуса боковых корней. В то же время до сих пор не ясно, как именно влияет соотношение физиологически значимых спектральных диапазонов на инициацию и дальнейший рост боковых корней. Одной из причин является ограниченная доступность корневой системы для исследований при постановке классических вегетационных экспериментов. Использование возможностей как современных источников светодиодного освещения, так и новых методик культивирования растений в гидропонных системах и на гелевых средах [23] позволяет глубже исследовать действия отдельных спектральных составляющих облучения на рост побегов и корневой системы растений.

Цель данной работы – установить особенности влияния физиологически значимых спектральных диапазонов и их соотношений на процессы морфогенеза растений арабидопсиса с применением новой методики выращивания растений на поверхности гидратцеллюлозной пленки при освещении LED-облучателями.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований являлись растения арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа (экотип Columbia 0). Растения выращивали на стерильной питательной среде Мурасиге–Скуга на основе фитогеля в квадратных (120×120 мм) чашках Петри. Поверх питательной среды размещали лист стерильной гидратцеллюлозной пленки (ГЦП), на поверхность которой наносили отдельные капли фитогеля для формирования посадочных гнезд для крепления семени и растения на поверхности ГЦП. Расположение корневой системы на плоскости прозрачной гидрофильной мембраны позволяет упростить процессы наблюдения и анализа. Перед посадкой семена стерилизовали в течение 1–2 мин в растворе 75 %-ного этанола с добавлением 0,1 % препарата Тритон X-100 и трехкратно промывали стерильной водой. Семена размещали на поверхности пленки из расчета два растения на одну чашку Петри. После посадки семян чашки герметично закрывали лентой Parafilm, оставляли на стратификацию (4 сут, 4 °С), а затем переносили в климатическую камеру (24 °С, 24-часовой фотопериод при освещении сверху люминисцентными лампами или LED-облучателями с плотностью потока фотонов (ППФ) 100 мкмоль·м⁻²·с⁻¹). Длительность вегетации составляла 25 сут.

Для освещения растений были использованы LED-облучатели производства Республиканского научно-производственного унитарного предприятия ЦСОТ НАН Беларуси, разработанные по техническому заданию Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси [24]. Излучение включало видимый свет всех длин волн (400–800 нм) с варьируемым соотношением квантов синего (С), красного (К), зеленого (З) и дальнего красного (ДК) спектральных диапазонов (см. таблицу). Спектральные характеристики светильников анализировали с использованием спектрорадиометра «МС-12» (Беларусь).

Характеристика вариантов освещения

Characteristics of lighting options

Характеристика облучателей		LL	LED 1	LED 2	LED 3	LED 4
Плотность потока фотонов, %	400–499 нм	24,1	34,8	23,8	15,1	12,5
	500–599 нм	16,3	16,0	16,3	14,3	3,3
	600–699 нм	49,9	35,8	46,8	59,6	64,1
	700–800 нм	4,2	13,4	12,9	10,9	20,2
Соотношение частей спектра	К/С	2	1	2	4	5
	К/(С + З)	1,2	0,7	1,2	2,0	4,1
	К/ДК	11,9	2,6	3,6	5,6	3,2

Определяли сырую и сухую массу розетки листьев, корневой системы, количество цветоносов и время их образования. Концентрацию фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b*) и каротиноидов оценивали согласно D. Wettstein [25]. Объем экспериментальной выборки для исследований в каждом варианте эксперимента составил 10 растений. Эксперимент проводили в трехкратной повторности. Данные на гистограммах представлены в виде средних арифметических значений со стандартными ошибками [26].

Результаты и их обсуждение. Важным показателем, характеризующим работу фотосинтетического аппарата растения, является количество фотосинтетических пигментов, так как это во многом определяет продуктивность фотосинтеза. Как отмечалось выше, свет разных спектральных диапазонов влияет на синтез хлорофилла и функционирование всего ФСА. Поэтому, варьируя спектральный состав освещения и стимулируя образование фотосинтетических пигментов, можно повысить интенсивность фотосинтеза, ускорить накопление сухого вещества и переход растений в стадию цветения. В данной работе было определено содержание хлорофилла и каротиноидов в листьях арабидопсиса на 25-е сутки вегетации. У растений, выращиваемых при варианте LED 3 (достаточно высокие значения К/С, К/(С + 3) и К/ДК) общее количество хлорофилла было достоверно выше, чем при прочих вариантах. Важно отметить, что спектр LED 3-облучателя по уровню ППФ красной части спектра (60 %) был близок к варианту LED 4 (64 %), но при этом количество света в дальней красной области было в 2 раза меньше (10 %), а в зеленой – в 4 раза больше. Интересно, что растения под облучателями LED 1, LED 2 и LED 4 практически не отличались между собой и содержали хлорофилла больше, чем при LL (рис. 1).

На данном этапе можно было заключить, что используемые варианты освещения по разному влияли на формирование фотосинтетических пигментов в листьях. Самое большое количество хлорофилла было характерно для растений при их освещении LED 3-облучателем с К/С, К/(С + 3), К/ДК – 4, 2 и 5,6 соответственно.

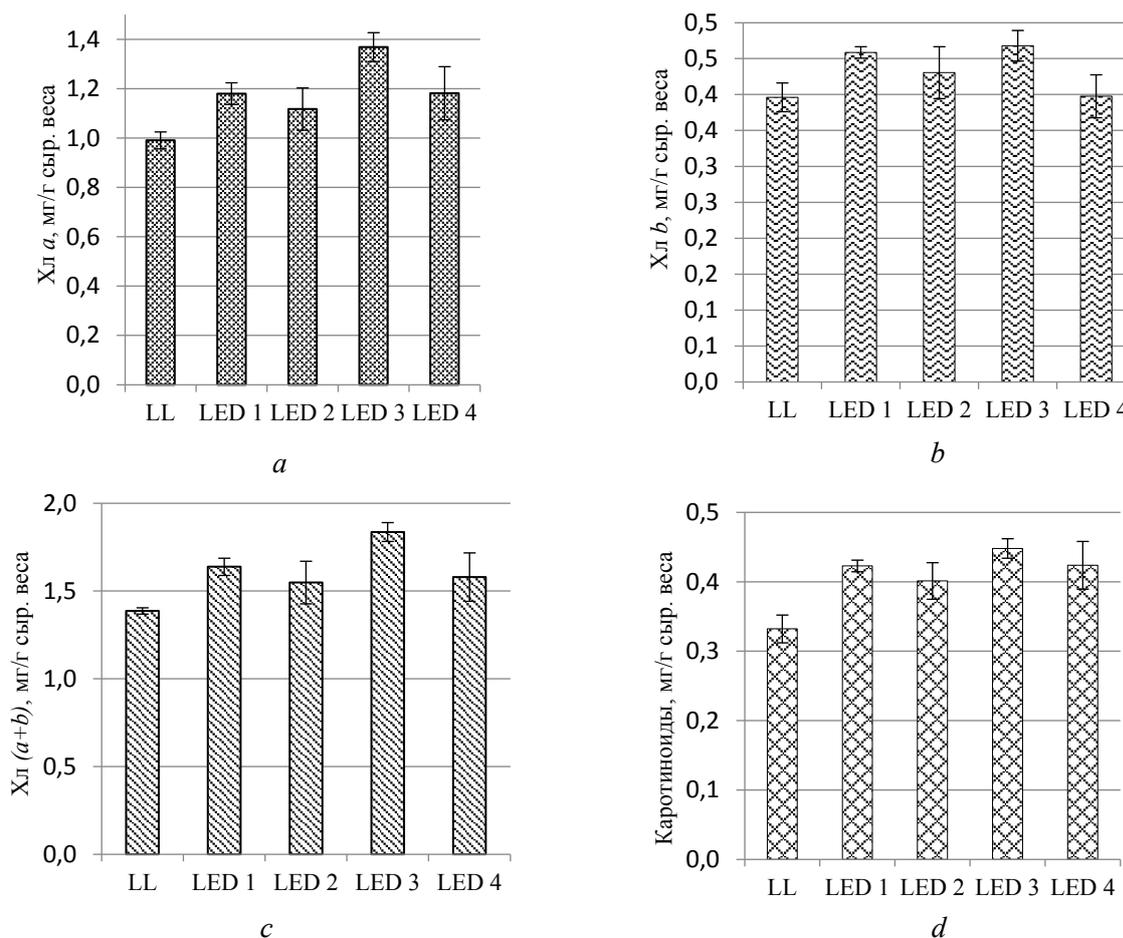


Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов (a – хлорофилл a; b – хлорофилл b; c – сумма хлорофиллов; d – каротиноиды) в листьях растений *Arabidopsis thaliana* при освещении различного спектрального состава

Fig. 1. The content of photosynthetic pigments (a – chlorophyll a; b – chlorophyll b; c – total chlorophyll; d – carotenoid) in the leaves of *Arabidopsis thaliana* plants using the illumination with different spectral composition

От качества и количества света зависят также и внешняя форма растения, его биометрические показатели. Фотоморфоз как реакция на свет определенного спектрального состава является интегральным ответом растительного организма, формирующимся в результате фоторецепции определенных длин волн и запуска соответствующих процессов сигнальной трансдукции. Как отмечалось выше, при разном спектральном составе освещения для растений были характерны определенные фотоморфозы.

Были оценены количество вегетативной массы и массы корневой системы, накопленной растениями, и время их перехода к стадии цветения. Наиболее сильно отличия были выражены по размерам розетки листьев и корневой системы. Так, самым большим накоплением сырой и сухой массы листьев характеризовались растения варианта LED 3. Например, сухая масса розетки у растений данного варианта была в 1,2–2 раза больше (рис. 2, *a, b*). Такую же закономерность наблюдали и при образовании корневой системы. При этом эффект был даже более значительным, чем для розетки листьев. Так, масса корней у LED 3-растений была в 1,5–4 раза больше, чем у других вариантов (рис. 2, *c, d*). Следует также отметить, что у LED 3-растений масса корневой системы была выше за счет увеличения количества боковых корней разных порядков (данные не приведены), в то время как у других вариантов происходило скорее удлинение боковых

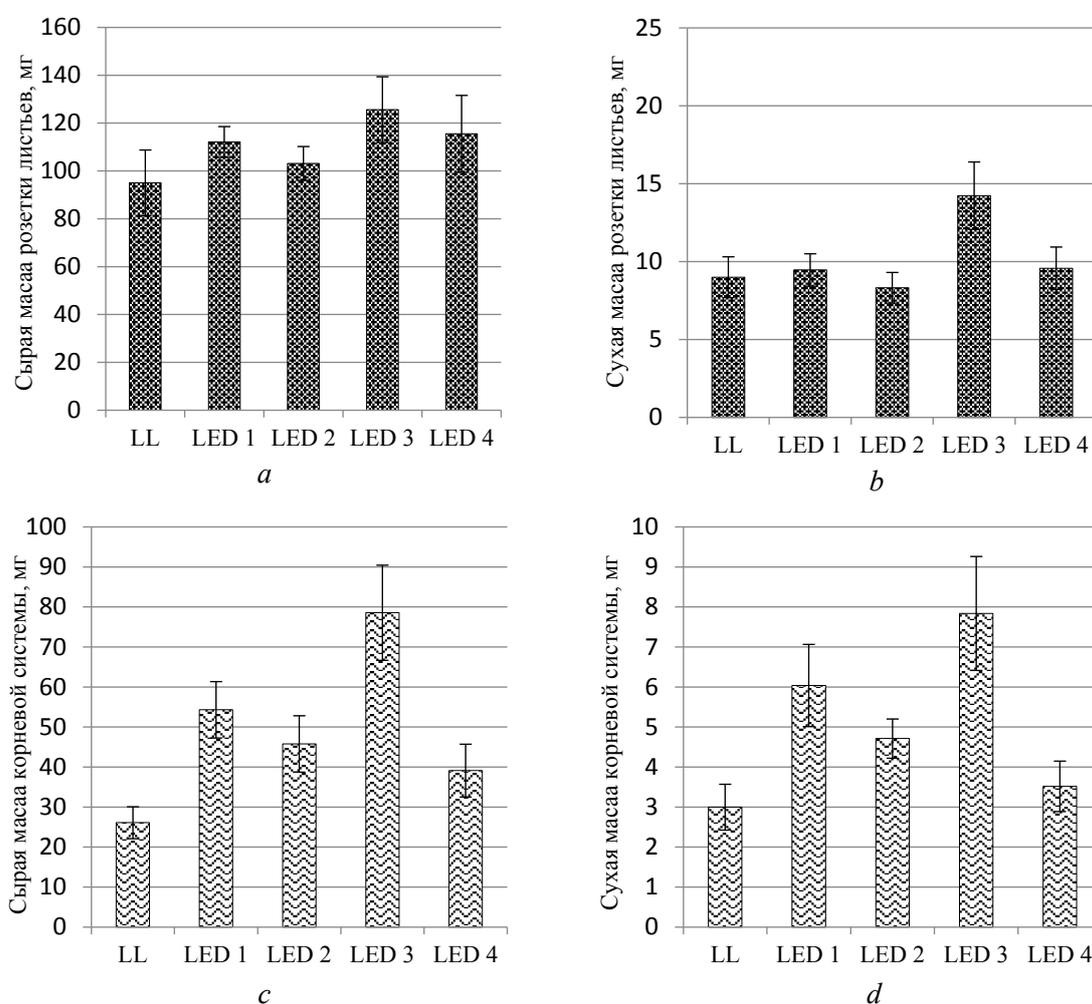


Рис. 2. Накопление сырой и сухой фитомассы *Arabidopsis thaliana* при освещении различного спектрального состава (*a* – сырая масса розетки листьев, *b* – сухая масса розетки листьев, *c* – сырая масса корневой системы, *d* – сухая масса корневой системы)

Fig. 2. The accumulation of wet and dry phytomass of *Arabidopsis thaliana* using the illumination with different spectral composition (*a* – wet mass of the leaves' rosette, *b* – dry mass of the leaves' rosette, *c* – wet mass of the root system, *d* – dry mass of the root system)

корней, чем образование новых. Боковые корни расширяют масштабы корневой системы, чтобы увеличить площадь поверхности для поглощения воды и питательных веществ, а также улучшить способность к креплению. Известно, что у арабидопсиса за ветвление корней отвечают в основном РНУ А, Е и D, а разветвленность корневой системы зависит от соотношения К/ДК. Семейство фоторецепторов фитохрома является мощным регулятором развития растений, влияя на широкий спектр реакций в течение всего жизненного цикла растения. Фитохромы могут быть в неактивной или активной форме. Равновесие между двумя формами динамически изменяется в зависимости от состава светового спектра в диапазоне 300–800 нм и сильно коррелирует с соотношением К/ДК [27]. Влияние фитохромной системы на рост растений от прорастания семени до цветения многогранно. Так, локализованный в побегах фитохром способен действовать на больших расстояниях, влияя на распределение ауксина и регулируя таким образом и развитие корней [28]. Большое количество ДК замедляет образование боковых корней, тогда как смещение соотношения в сторону красного света (увеличение К/ДК) благоприятствует процессу их образования [29, 30]. В нашем эксперименте минимальное количество лучей ДК-области у одного из вариантов (LL) составляло 4 %, максимальное – 20 % (LED 4). При этом, хотя масса корней у LED 4-растений была достаточно низкой, минимальный уровень ППФ в ДК-области и максимальное соотношение К/ДК у варианта LL также оказалось не эффективно для образования разветвленной корневой системы. Самый высокий уровень ППФ в красной области спектра (64 %) имел также вариант LED 4, но при этом для образования боковых корней разных порядков наиболее эффективным оказалось освещение с К, равным 60 %, и вдвое меньшим ДК – 11 % (LED 3). Таким образом, для формирования развитой корневой системы растениям кроме высокого соотношения К/ДК требовался также достаточный уровень К/С ($K/C + 3$). Возможно, это связано с зависимостью регуляторных и биосинтетических процессов от рецепции света других спектральных диапазонов. В клетках листьев и корней арабидопсиса, как уже было отмечено, функционирует сложная система фоторецепторов, поглощающих свет всего диапазона ФАР и обеспечивающих в результате всю совокупность морфоанатомических модификаций растений. Большинство рецепторов поглощают свет именно в синей и зеленой областях спектра [5].

Следует отметить, что при всех вариантах LED-освещения у растений в среднем на 5–6 дней раньше образовывались соцветия, при этом их количество при разном спектральном составе освещения также отличалось. На 25-е сутки при люминесцентном освещении (LL) у растений в среднем было, как правило, один-два цветоноса. При всех вариантах LED-освещения количество цветоносов было в 3–5 раз больше, чем при люминесцентном освещении (рис. 3, *a*). Соответственно, сырая и сухая масса генеративных побегов за счет их большего количества также была выше при LED-освещении (рис. 3, *c, d*). В то же время показатели массы одного соцветия достоверно не различались при разных вариантах освещения (рис. 3, *b*).

Инициация перехода от вегетативного к генеративному этапу развития – сложный многофазный процесс, который включает индукцию цветения, или перцепцию флорального стимула; транспорт флорального стимула; эвокацию цветения (процесс, в ходе которого в апикальной меристеме побега происходят необратимые изменения, направляющие дифференцировку ее клеток по генеративному пути развития). В процессе эвокации возрастает частота деления клеток в меристеме, увеличивается ее объем и изменяется форма [31]. В данной работе не исследовалось строение меристемы стебля, однако можно заключить, что усиленный синтез органического вещества способствует активному образованию клеточных структур и органов растения, в том числе закладке цветоносов, т. е. ускорению развития растения и более быстрому завершению жизненного цикла. У многих длиннодневных растений, включая *Arabidopsis thaliana*, *Campanula carpatica* и *Gypsophila paniculata*, наблюдается ускоренное цветение в ответ на низкое соотношение К/ДК [32]. У арабидопсиса РНУВ и РНУА являются основными фоторецепторами, которые контролируют цветение в ответ на К и ДК и их соотношение [33]. Красный и дальний красный свет воспринимается фоторецепторами листьев, затем в результате трансдукции сигналов на уровне факторов транскрипции происходит запуск процессов дифференцировки, приводящих к формированию цветка [34]. Полученные нами результаты указывают на важную роль соотношения К/ДК в полнспектральном LED-освещении для наступления цветения. Так, согласно

нашим данным, оптимальным его соотношением является 3–6. В то же время при варианте LED 2 количество соцветий у растений было несколько меньше, чем при других LED-вариантах. Это связано, возможно, с тем, что при данных спектральных характеристиках освещения требуется больше времени, чтобы началось деление меристемы, приводящее к образованию цветка.

При анализе спектральных характеристик используемых облучателей видно, что наиболее близкими по спектральным характеристикам оказались спектр люминесцентного LL и светодиодного облучателя варианта LED 2, за исключением ДК области (у варианта LED 2 количество лучей этой области было в 3 раза больше). Так, по некоторым показателям растения этих двух вариантов очень похожи: масса розетки листьев у них достоверно не отличалась (см. рис. 2). Существенным отличием между этими двумя вариантами является количество цветоносов и время наступления цветения. У растений при LED 2 их количество было в 3 раза больше и было сравнимо с растениями других LED-вариантов, что может быть обусловлено более низким соотношением К/ДК, чем при LL-освещении. Максимальное количество цветоносов формировалось при LED 3-освещении. На первом этапе было установлено, что при данном освещении растения характеризовались самым высоким содержанием хлорофилла в листьях. Среди использованных вариантов оно оказалось наиболее эффективным и для образования сухого вещества надземной

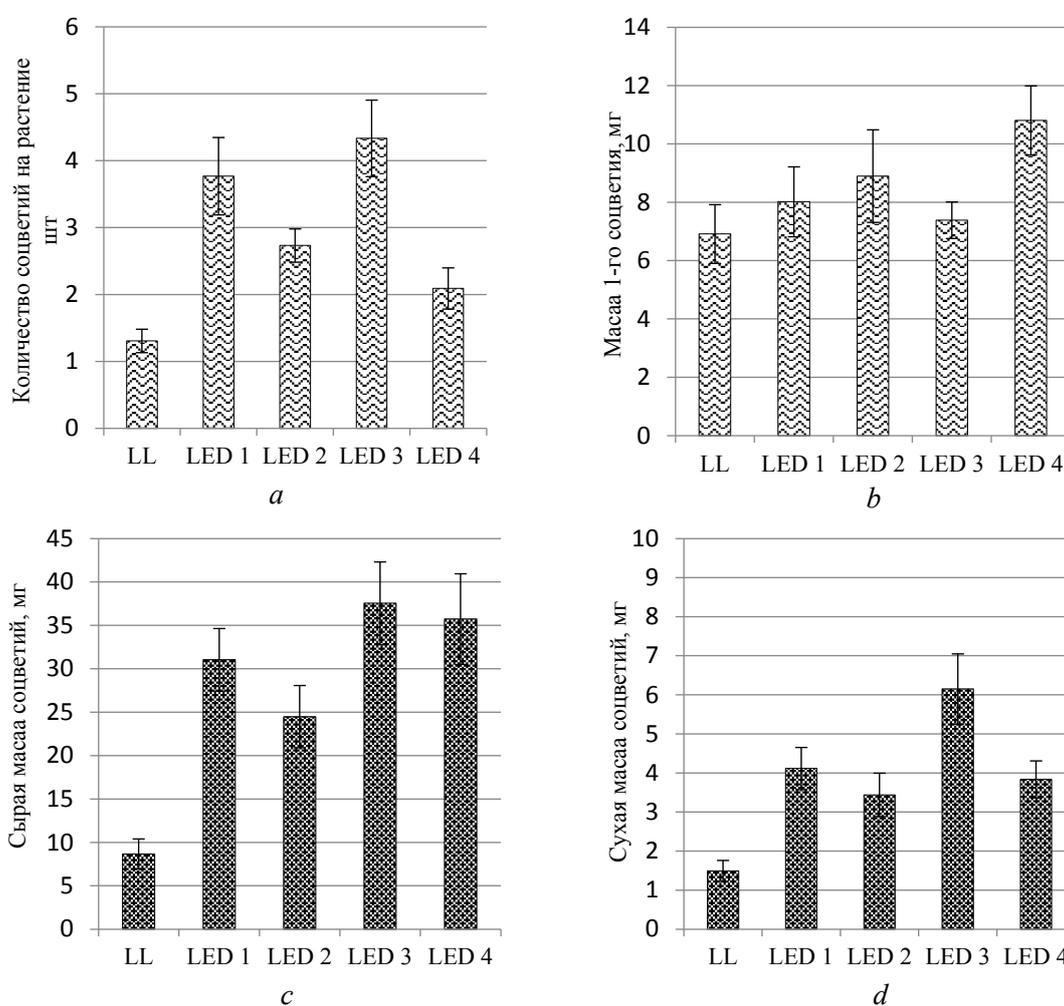


Рис. 3. Масса и количество соцветий у *Arabidopsis thaliana* при освещении различного спектрального состава (a – количество соцветий на одно растение, b – масса одного соцветия, c – сырая масса всех соцветий, d – сухая масса всех соцветий)

Fig. 3. The mass and number of inflorescences of *Arabidopsis thaliana* using the illumination with different spectral composition (a – number of inflorescences per plant, b – mass of one inflorescence, c – wet mass of all inflorescences, d – dry mass of all inflorescences)

части арабидопсиса, особенно для его корневой системы, что может свидетельствовать о более эффективной работе ФСА в листьях при данных спектральных характеристиках облучателя. Как было показано выше, вариант LED 4 имел самый высокий уровень ППФ в красной и дальней красной областях спектра, но данное освещение оказалось не самым эффективным для стимуляции роста листьев и корней. В то же время следует отметить, что у LED 4-освещения практически отсутствует зеленая область спектра (3 %), в то время как у других вариантов ППФ в этой области составляло 14–16 %.

Заключение. Спектральный состав света выступает важным фактором, определяющим морфогенез и конечную форму растения. Методика выращивания *Arabidopsis thaliana* на поверхности гидратцеллюлозной пленки является удобным способом изучения действия света разного спектрального состава на морфогенез всего растения. Расположение корневой системы на плоскости прозрачной гидрофильной мембраны позволяет упростить наблюдение и анализ. В результате проведенных исследований установлено ускорение образования соцветий и цветения при всех вариантах LED-освещения. Это может быть обусловлено тем, что все варианты LED-освещения характеризовались более низким соотношением К/ДК, чем люминесцентное освещение. Наиболее эффективным для стимуляции цветения оказалось LED-освещение с соотношениями К/С, К/(С + З), К/ДК, равными 4, 2, 6 соответственно, что указывает на важное значение данных соотношений в спектре физиологически активной радиации для вступления растений в генеративную фазу. Кроме того, при данном спектральном составе освещения формировалась наиболее разветвленная корневая система, отмечалось максимальное содержание фотосинтетических пигментов и накопление сухого вещества надземной части. Вероятно, свет данного спектрального состава обеспечивает также эффективную работу фотосинтетического аппарата, а в итоге – формирование корневой системы и накопление вегетативной массы розетки листьев, активируя процессы дифференцировки клеток меристемы по пути закладки цветков.

Полученные данные подтверждают необходимость создания полноспектральных облучателей при искусственном освещении растений. В перспективе эти знания могут служить основой для разработки методик направленного формирования надземной части и корневой системы, стимуляции цветения, синтеза метаболитов, адаптированных под конкретные задачи сельского хозяйства.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований Б19РМ-065 и Российского фонда фундаментальных исследований Бел_мол_а 19-54-04015.

Acknowledgements. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research B19RM-065 and the Russian Foundation for Fundamental Research Bel_mol_a 19-54-04015.

Список использованных источников

1. Циклический гуанозинмонофосфат и сигнальные системы клеток растений / Л. В. Дубовская [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 273 с.
2. Furuya, M. Phytochromes: their molecular species, gene family and functions / M. Furuya // Ann. Rev. Plant Phys. Plant Mol. Biol. – 1993. – Vol. 44, N 1. – P. 617–645. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.44.060193.003153>
3. Lin, C. Cryptochrome structure and signal transduction / C. Lin, D. Shalitin // Ann. Rev. Plant Biol. – 2003. – Vol. 54, N 1. – P. 469–496. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.110901.160901>
4. The phototropin family of photoreceptors / W. R. Briggs [et al.] // Plant Cell. – 2001. – Vol. 13, N 5. – P. 993–997. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.5.993>
5. Phytochrome Signaling Mechanisms / J. Li [et al.] // Arabidopsis Book. – 2011. – Vol. 2011, N 9. – P. e0148. <https://doi.org/10.1199/tab.0148>
6. Gyula, P. Light perception and signalling in higher plants / P. Gyula, E. Schäfer, F. Nagy // Curr. Opin. Plant Biol. – 2003. – Vol. 6, N 5. – P. 446–452. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(03\)00082-7](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(03)00082-7)
7. Jiao, Y. Light-regulation transcriptional networks in higher plants / Y. Jiao, O. S. Lau, X. W. Deng // Nat. Rev. Genet. – 2007. – Vol. 8, N 3. – P. 217–230. <https://doi.org/10.1038/nrg2049>
8. Galvão, V. C. Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps / V. C Galvão, C. Fankhauser // Curr. Opin. Neurobiol. – 2015. – Vol. 34. – P. 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.01.013>
9. Folta, K. Light as a growth regulator: controlling plant biology with narrow-bandwidth solid-state lighting systems / K. Folta, K. S. Childers // Horticult. Sci. – 2008. – Vol. 43, N 7. – P. 1957–1964. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1957>

10. Gelderen, K. Light signaling, root developmet and plasticity / K. Gelderen, C. Kang, R. Pierik // *Plant Physiol.* – 2018. – Vol. 176, N 2. – P. 1049–1060. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01079>
11. Sæbø, A. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of brich plantlets *in vitro* / A. Sæbø, T. Krekling, M. Appelgren // *Plant Cell, Tiss. Organ Cult.* – 1995. – Vol. 41, N 2. – P. 177–185. <https://doi.org/10.1007/bf000051588>
12. Senger, H. The effect of blue light on plants and microorganisms / H. Senger // *Phytochem. Photobiol.* – 1982. – Vol. 35, N 6. – P. 911–920. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1982.tb02668.x>
13. McCree, K. J. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants / K. J. McCree // *Agricult. Meteorol.* – 1972. – Vol. 9. – P. 191–216. [https://doi.org/10.1016/0002-1571\(71\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0002-1571(71)90022-7)
14. The research on LED supplementary lighting system for plants / Y. Xu [et al.] // *Optik.* – 2016. – Vol. 127, N 18. – P. 7193–7201. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2016.05.056>
15. Fraszczak, B. Effect of short-term exposure to red and blue light on dill plants growth / B. Fraszczak // *Hortcult. Sci. (Prague).* – 2013. – Vol. 40, N 4. – P. 177–185. <https://doi.org/10.17221/149/2013-HORTSCI>
16. Gupta, S. D. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis : review / S. D. Gupta, B. Jatothu // *Plant Biotechnol. Rep.* – 2013. – Vol. 7, N 3. – P. 211–220. <https://doi.org/10.1007/s11816-013-0277-0>
17. Morrow, R. C. LED lighting in horticulture / R. C. Morrow // *HortScience.* – 2008. – Vol. 43, N 7. – P. 1947–1950. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1947>
18. Poudel, P. R. Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes / P. R. Poudel, I. Kataoka, R. Mochioka // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* – 2008. – Vol. 92, N 2. – P. 147–153. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9317-1>
19. Dastidar, M. G. Root branching: mechanisms, robustness and plasticity / M. G. Dastidar, V. Jouannet, A. Maizel // *Wiley Interdiscipl. Reviews: Dev. Biol.* – 2012. – Vol. 1, N 3. – P. 329–343. <https://doi.org/10.1002/wdev.17>
20. Ivanov, V. B. Cytokinins regulate root growth through its action on meristematic cell proliferation but not on the transition to differentiation / V. B. Ivanov, A. N. Filin // *Funct. Plant Biol.* – 2017. – Vol. 45, N 2. – P. 215–221. <https://doi.org/10.1071/FP16340>
21. Halliday phytochrome coordinates *Arabidopsis* shoot and root development / F. J. Salisbury [et al.] // *Plant J.* – 2007. – Vol. 50, N 3. – P. 429–438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03059.x>
22. Kutschera, U. Root phototropism: from dogma to the mechanism of blue light perception / U. Kutschera, W. R. Briggs // *Planta.* – 2012. – Vol. 235, N 3. – P. 443–452. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1597-y>
23. Применение гидратцеллюлозной пленки для исследования роста и развития корневой системы модельного растения *Arabidopsis thaliana* L. / А. С. Кривобок [и др.] // *Биотехнология.* – 2020. – Т. 36, № 1. – С. 36–43. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-1-36-43>
24. Особенности формирования фотосинтетического аппарата микроклонов *Populus tremula* L. и *Betula pendula* Roth. при LED-освещении различного спектрального состава в процессе адаптации *ex vitro* / Т. Н. Куделина [и др.] // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2019. – Т. 64, № 4. – С. 456–466.
25. Wettstein, D. Formula of chlorophyll determination / D. Wettstein // *Exp. Cell Res.* – 1957. – Vol. 12, N 3. – P. 427–489.
26. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Выш. шк., 1973. – 320 с.
27. Photosynthetic efficiency and phytochrome photoequilibria determination using spectral data / J. Sager [et al.] // *Transactions ASAE.* – 1988. – Vol. 31, N 6. – P. 1882–1889. <https://doi.org/10.13031/2013.30952>
28. Root phototropism: how light and gravity interact in shaping plant form / J. Z. Kiss [et al.] // *Gravit. Space Biol. Bull.* – 2003. – Vol. 16, N 2. – P. 55–60.
29. Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture / S. Demotes-Mainard [et al.] // *Environ. Exp. Botany.* – 2016. – Vol. 121. – P. 4–21. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010>
30. Phytochrome coordinates *Arabidopsis* shoot and root development / F. J. Salisbury [et al.] // *Plant J.* – 2007. – Vol. 50, N 3. – P. 429–438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03059.x>
31. Чайлахян, М. Х. Регуляция цветения высших растений / М. Х. Чайлахян. – Минск : Наука, 1988. – 558 с.
32. Kim, S. Y. Regulation of constans and flowering locus T expression in response to changing light quality / S. Y. Kim, X. Yu, S. D. Michaels // *Plant Physiol.* – 2008. – Vol. 148, N 1. – P. 269–279. <https://doi.org/10.1104/pp.108.122606>
33. Regulation of photoperiodic flowering by *Arabidopsis* photoreceptors / T. Mockler [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 100, N 4. – P. 2140–2145. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437826100>
34. Suárez-López, P. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis* / P. Suárez-López // *Nature.* – 2001. – Vol. 410, N 6832. – P. 1116–1120. <https://doi.org/10.1038/35074138>

References

1. Dubovskaya L. V., Kolesneva E. V., Bakakina Yu. S., Volotovskii I. D. *Cyclic guanosine monophosphate and plant cell signaling systems.* Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 273 p. (in Russian).
2. Furuya M. Phytochromes: their molecular species, gene family and functions. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1993, vol. 44, no. 1, pp. 617–645. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.44.060193.003153>
3. Lin C., Shalitin D. Cryptochrome structure and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, vol. 54, no. 1, pp. 469–496. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.110901.160901>
4. Briggs W. R., Beck C. F., Cashmore A. R., Christie J. M., Hughes J., Jarillo J. A. [et al.]. The phototropin family of photoreceptors. *Plant Cell*, 2001, vol. 13, no. 5, pp. 993–997. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.5.993>

5. Li J., Li G., Wang H., Deng X. W. Phytochrome Signaling Mechanisms. *Arabidopsis Book*, 2011, vol. 2011, no. 9, p. e0148. <https://doi.org/10.1199/tab.0148>
6. Gyula P., Schäfer E., Nagy F. Light perception and signalling in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, vol. 6, no. 5, pp. 446–452. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(03\)00082-7](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(03)00082-7)
7. Jiao Y., Lau O. S., Deng X. W. Light-regulation transcriptional networks in higher plants. *Nature Reviews Genetics*, 2007, vol. 8, no. 3, pp. 217–230. <https://doi.org/10.1038/nrg2049>
8. Galvão V. C., Fankhauser C. Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. *Current Opinion in Neurobiology*, 2015, vol. 34, pp. 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.01.013>
9. Folta K., Childers K. S. Light as a growth regulator: controlling plant biology with narrow-bandwidth solid-state lighting systems. *Horticultural Science*, 2008, vol. 43, no. 7, pp. 1957–1964. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1957>
10. Gelderen K., Kang C., Pierik R. Light signaling, root development and plasticity. *Plant Physiology*, 2018, vol. 176, no. 2, pp. 1049–1060. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01079>
11. Sæbø A., Krekling T., Appelgren M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of brich plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1995, vol. 41, no. 2, pp. 177–185. <https://doi.org/10.1007/BF00051588>
12. Senger H. The effect of blue light on plants and microorganisms. *Photochemistry and Photobiology*, 1982, vol. 35, no. 6, pp. 911–920. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1982.tb02668.x>
13. McCree K. J. The action spectrum, absorptance and quantum yield of photosynthesis in crop plants. *Agricultural Meteorology*, 1972, vol. 9, pp. 191–216. [https://doi.org/10.1016/0002-1571\(71\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0002-1571(71)90022-7)
14. Xu Y., Chang Y., Chen G., Lin H. The research on LED supplementary lighting system for plants. *Optik*, 2016, vol. 127, no. 18, pp. 7193–7201. <https://doi.org/10.1016/j.jjleo.2016.05.056>
15. Fraszczak B. Effect of short-term exposure to red and blue light on dill plants growth. *Horticultural Science Czech Academy of Agricultural Sciences*, 2013, vol. 40, no. 4, pp. 177–185. <https://doi.org/10.17221/149/2013-HORTSCI>
16. Gupta S. D., Jatohu B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis: review. *Plant Biotechnology Reports*, 2013, vol. 7, no. 3, pp. 211–220. <https://doi.org/10.1007/s11816-013-0277-0>
17. Morrow R. C. LED lighting in horticulture. *HortScience*, 2008, vol. 43, no. 7, pp. 1947–1950. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1947>
18. Poudel P. R., Kataoka I., Mochioka R. Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2008, vol. 92, pp. 147–153. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9317-1>
19. Dastidar M. G., Jouannet V., Maizel A. Root branching: mechanisms, robustness and plasticity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 2012, vol. 1, no. 3, pp. 329–343. <https://doi.org/10.1002/wdev.17>
20. Ivanov V. B., Filin A. N. Cytokinins regulate root growth through its action on meristematic cell proliferation but not on the transition to differentiation. *Functional Plant Biology*, 2017, vol. 45, no. 2, pp. 215–221. <https://doi.org/10.1071/FP16340>
21. Salisbury F. J., Hall A., Grierson C. S., Halliday K. J. Phytochrome coordinates Arabidopsis shoot and root development. *Plant Journal*, 2007, vol. 50, no. 3, pp. 429–438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03059.x>
22. Kutschera U., Briggs W. R. Root phototropism: from dogma to the mechanism of blue light perception. *Planta*, 2012, vol. 235, no. 3, pp. 443–452. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1597-y>
23. Krivobok A. S., Konovalova I. O., Kudelina T. N., Smolyanina S. O., Lilienberg A. I., Bibikova T. N. Utilization of a hydrate cellulose film for investigation of *Arabidopsis thaliana* L. root system growth and development. *Biotechnology*, 2020, vol. 36, no. 1, pp. 36–43. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-1-36-43>
24. Kudelina T. N., Konstantinov A. V., Obukhovskaya L. V., Molchan O. V. Feature of formation of photosynthetic apparatus of microcuttings of *Populus tremula* L. and *Betula pendula* Roth. at LED-lighting of various spectral composition during *ex vitro* adaptation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 4, pp. 456–466 (in Russian).
25. Wettstein D. Formula of chlorophyll determination. *Experimental Cell Research*, 1957, vol. 12, no. 3, pp. 427–489.
26. Rokitskii P. F. *Biological statistics. 3rd ed.* Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 320 p. (in Russian).
27. Sager J., Smith W., Edwards J., Cyr K. L. Photosynthetic efficiency and phytochrome photoequilibria determination using spectral data. *Transactions of the ASAE*, 1988, vol. 31, no. 6, pp. 1882–1889. <https://doi.org/10.13031/2013.30952>
28. Kiss J. Z., Correll M. J., Mullen J. L., Hangarter R. P., Edelmann R. E. Root phototropism: how light and gravity interact in shaping plant form. *Gravitational and Space Biology Bulletin*, 2003, vol. 16, no. 2, pp. 55–60.
29. Demotes-Mainarda S., Pérona T., Corot A., Bertheloot J., Gourrier J., Pelleschi-Travier S. [et al.] Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, vol. 121, pp. 4–21. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.010>
30. Salisbury F. J., Hall A., Grierson C. S., Halliday K. J. Phytochrome coordinates Arabidopsis shoot and root development. *Plant Journal*, 2007, vol. 50, no. 3, pp. 429–438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03059.x>
31. Chailakhyan M. Kh. *Regulation of flowering of higher plants.* Moscow, Nauka Publ., 1988. 558 p. (in Russian).
32. Kim S. Y., Yu X., Michaels S. D. Regulation of constans and flowering locus T expression in response to changing light quality. *Plant Physiology*, 2008, vol. 148, no. 1, pp. 269–279. <https://doi.org/10.1104/pp.108.122606>
33. Mockler T., Yang H., Yu X. H., Parikh D., Cheng Y., Dolan S., Lin C. Regulation of photoperiodic flowering by Arabidopsis photoreceptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2003, vol. 100, no. 4, pp. 2140–2145. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437826100>
34. Suarez-Lopez P. Constans mediates between the circadian clock and the control of flowering in Arabidopsis. *Nature*, 2001, vol. 410, no. 6832, pp. 1116–1120. <https://doi.org/10.1038/35074138>

Информация об авторах

Куделина Татьяна Николаевна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: 10tan10@mail.ru

Кривобок Анна Святославовна – науч. сотрудник. Институт медико-биологических проблем РАН (Хорошевское шоссе, д. 76А, 123007, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: nuxin@yandex.ru

Бибикова Татьяна Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова (Ленинские горы, 1-12, 119991, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: bibikova@mail.bio.msu.ru

Молчан Ольга Викторовна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olga_molchan@mail.ru

Information about the authors

Tatiana N. Kudelina – 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: 10tan10@mail.ru

Anna S. Krivobok – Researcher. Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences (76A, Khoroshevskoe highway, 123007, Moscow, Russian Federation). E-mail: nuxin@yandex.ru

Tatiana N. Bibikova – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Lomonosov Moscow State University (1-12, Leninskie Gory, 119991, Moscow, Russian Federation). E-mail: bibikova@mail.bio.msu.ru

Olga V. Molchan – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olga_molchan@mail.ru

ISSN 1029-8940 (Print)
 ISSN 2524-230X (Online)
 УДК 574.587
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-53-63>

Поступила в редакцию 12.06.2020
 Received 12.06.2020

И. И. Лапука¹, В. В. Вежновец¹, А. А. Шкуте²

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

²Даугавпилский университет, Даугавпилс, Латвия

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ И ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ЗООБЕНТОСА ТРАНСГРАНИЧНОГО (БЕЛАРУСЬ–ЛАТВИЯ) ОЗЕРА СИТА

Аннотация. Изучен зообентос трансграничного (Беларусь–Латвия) оз. Сита. Зарегистрировано 47 таксонов донных животных от вида и выше. В составе донной фауны указан охраняемый реликтовый вид *Pallaseopsis qudrispinosa*, занесенный в Красную книгу Беларуси. Без учета моллюсков основу численности и биомассы составили личинки хирономид. Согласно средним величинам численности и биомассы зообентоса (796 экз/м² и 2,6 г/м²), озеро относится к мезотрофному типу.

Установлено, что неравномерность в распределении по глубине характерна как для всего сообщества, так и для отдельных его групп и видов. Таксономическое разнообразие снижается с увеличением глубины, понижением температуры и концентрации кислорода. Численность зообентоса растет от прибрежья к глубине 10 м, а затем постепенно снижается (минимальные значения – на максимальных глубинах). Максимальные значения биомассы в точках отбора, в значительной мере определяемые наличием моллюсков, отмечены на глубине 5,4 м.

Видовые популяции приурочены к определенным глубинам. Для близкородственных видов наблюдается частичное или полное разделение экологических ниш.

Ключевые слова: зообентос, видовой состав, численность, биомасса, пространственная структура

Для цитирования: Лапука, И. И. Таксономическая и пространственная структура зообентоса трансграничного (Беларусь–Латвия) озера Сита / И. И. Лапука, В. В. Вежновец, А. А. Шкуте // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 53–63. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-53-63>

Ilya I. Lapuka¹, Vasil V. Vezhnavevts¹, Arturs A. Škute²

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

²Daugavpils University, Daugavpils, Latvia

TAXONOMIC AND SPATIAL STRUCTURE ZOOBENTHOS OF THE TRANSBOUNDARY (BELARUS–LATVIA) LAKE SITA

Abstract. The zoobenthos of the cross-board (Belarus–Latvia) lake Sita was studied. The registered 47 taxa of benthic fauna from the species and taxa above the species. The bottom fauna includes a protected relict species *Pallaseopsis qudrispinosa*, listed in the Red book of Belarus. Chironomid larvae formed the basis of the abundance and biomass excluded molluscs. The lake belongs to mesotrophic type according to the average abundance and biomass zoobenthos.

Spatial heterogeneity has been established in the depth distribution of the entire community, individual groups, and species. Taxonomic diversity decreased with increased depth, fall of temperature and oxygen concentration. Abundance grows from the littoral to a depth of 10 meters and then gradually decreases to the maximum depth. The biomass was determined largely by the presence of molluscs, maximum values are marked at depth 5.4 meters. The population of the species is confined to certain depths. For closely related species, there is a partial or complete division of ecological niche.

Keywords: zoobenthos, species composition, abundance, biomass, spatial structure

For citation: Lapuka I. I., Vezhnavevts V. V., Škute A. A. Taxonomic and spatial structure zoobenthos of the transboundary (Belarus–Latvia) lake Sita. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 53–63 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-53-63>

Введение. Пространственная неоднородность распределения видовых популяций наблюдается во всех водоемах. Агрегированность является неотъемлемой частью распределения популяций всех основных водных сообществ. Причины этого явления разные: размножение, распределение кормовых ресурсов, конкурентные отношения, избегание хищников и т. п. При этом распределение, или пространственная структура, всего зообентоса и отдельных популяций зависит

от основных абиотических факторов (температуры, содержания растворенного кислорода), типа водоема и времени года.

В димиктических озерах, к которым относится оз. Сита, на распределение сообществ летом преимущественное влияние оказывают температура и содержание кислорода на разных глубинах. В зависимости от сочетания этих основных условий обитания популяции выбирают места, благоприятные для их жизнедеятельности. При этом пространственное размещение и экологические условия обитания являются одной из характеристик их экологической ниши.

Цель работы – установить видовой состав, численность и биомассу зообентоса и их изменение на станциях различной глубины при летнем термическом расслоении водной толщи.

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены 04.08.2019 г. на оз. Сита (Браславский р-н, Витебская обл.). Это среднеглубокий водоем, расположенный на границе с Латвией (координаты: 55°40'30.5" с. ш. и 26°47'70.5" з. д.), его площадь составляет 1,88 км²; максимальная глубина – 28,5 м, средняя – 7,6 м; объем воды – 14,37 млн м³ (рис. 1) [1]. Озеро по генетическому типу относится к водоемам мезотрофного типа с прозрачностью по белому диску Секки от 3,8 до 5,0 м. Черты олиготрофии этому водоему придает наличие реликтовых ракообразных – длиннохвостого лимнокалянуса *Limnocalanus macrurus* (Sars, 1863) и бокоплава Палласа (*Pallaseopsis quadrispinosa* (Sars, 1867)) [2], занесенных в Красную книгу [3].

Пробы зообентоса были отобраны на 7 станциях – от побережья до максимальной глубины и приурочены к изменениям основных факторов среды обитания. Глубины отбора проб: 0,5 м – литораль; 1,3 м – начало материкового склона; 5,4 и 10 м – начало и конец термоклина; 15 м – начало клинолимниона (постоянной температуры); 19,5 м – начало резкого дефицита кислорода (менее 2 мг/л); 27,6 м – максимальная глубина, почти полное отсутствие растворенного кислорода. В прибрежье количественные сборы проводили сачком в заросшей (тростник) и свободной от высшей растительности зонах, а качественные – путем ручного сбора животных с погруженных предметов (камней и древесных останков). На более глубоких станциях использовали дночерпатель системы Боруцкого с площадью захвата 0,0225 м². Исследования проводили в трех повторностях.

Для измерения температуры и концентрации кислорода использовали оксиметр HI 9143.

Лабораторную обработку проб осуществляли под бинокулярным микроскопом МБС-10, детали морфологии уточняли с помощью микроскопа Jenaval.



Рис. 1. Местоположение оз. Сита и карта-схема отбора проб

Fig. 1. Location of the lake Sita and the schematic map of the sampling

Для идентификации животных использовали «Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР: (Планктон и бентос)» и «Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Том 4» [4–7].

Статистическую обработку всех полученных фаунистических результатов, построение графиков проводили, используя пакеты программ Excel 2010 и IBM SPSS Statistica.

Расчет индекса Шеннона производили по формуле $H = -\sum p_i \ln p_i$, индекса Симпсона – по формуле $D = \frac{\sum n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$, где $p_i = n_i/N$ – доля i -го вида в биотопе; n_i – численность i -го вида, экз.; N – общая численность; \ln – натуральный логарифм.

Результаты и их обсуждение. В период исследования температура в оз. Сита менялась от 5,1 °С у дна до 20,1 °С у поверхности озера. Прозрачность по белому диску Секки составила 4,8 м (рис. 2). Поверхностная температура этого года была низкой относительно температуры последних 5 лет наблюдений, когда она была в пределах 23–24 °С. В гипolimнии температурные условия не выходили за рамки многолетних значений. Металимнион имел продолжительность от 6 до 11 м, здесь наблюдалось снижение температуры с 19,7 до 6,7 °С.

Содержание растворенного в воде кислорода варьировалось от 0,22 мг/л у дна (27 м) до 8,15 мг/л в зоне эпилимниона (5 м) (рис. 3). На глубине 6–7 м обнаружен оксиклин, концентрация которого была снижена в 2 раза – с 7,8 до 3,5 мг/л, а с увеличением глубины отмечалось ее дальнейшее постепенное снижение. Значения ниже ПДК для рыбного населения (2 мг/л) наблюдались на глубине более 20 м.

В период исследования оз. Сита, в августе 2019 г., было обнаружено и определено 47 таксонов от вида и выше. Систематическая принадлежность таксонов приведена в таблице. Все животные представлены 4 типами, 6 классами, 10 отрядами и 28 семействами.

По встречаемости преобладал класс насекомых – 64,7 %. Из них личинки двукрылых составили 58,1 % от общего числа экземпляров других представителей зообентоса (рис. 4). Доля трех таксономических групп – двусторчатых моллюсков, кольчатых червей и ракообразных – составила 11,4; 11,6 и 12,4 % соответственно. Остальные таксономические группы были представлены в основном единичными экземплярами. По таксономическому составу озеро оказалось богаче, чем близкие по трофности озера Северный и Южный Волос в летний период 2018 г. (25 и 30 таксонов соответственно) [8].

Как было отмечено выше, самой широко представленной таксономической группой является отряд Diptera – 19 видов. В данном отряде наибольшим видовым богатством отличалось семейство Chironomidae – 16 видов, а другие семейства (Chaoboridae, Ceratopogonidae и Tabanidae) были представлены только одним таксоном от вида и выше.

В остальных таксономических группах самыми встречаемыми оказались поденки и ручейники – по 5 таксонов от вида и выше, стрекозы – по 4. Кольчатые черви, пиявки, амфиподы и жуки были представлены двумя, остальные группы – одним низшим таксоном.

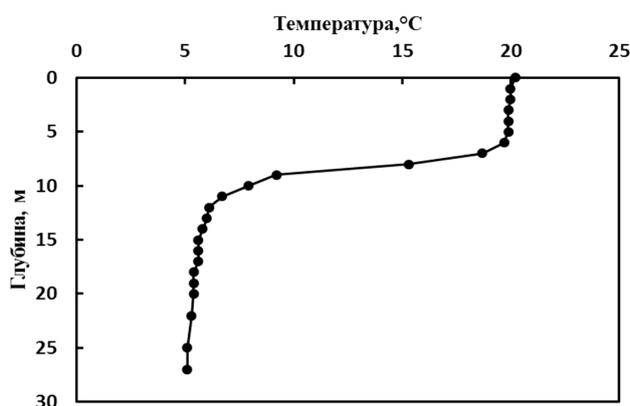


Рис. 2. Распределение температуры по глубинам в оз. Сита
Fig. 2. Temperature distribution by depth in the lake Sita

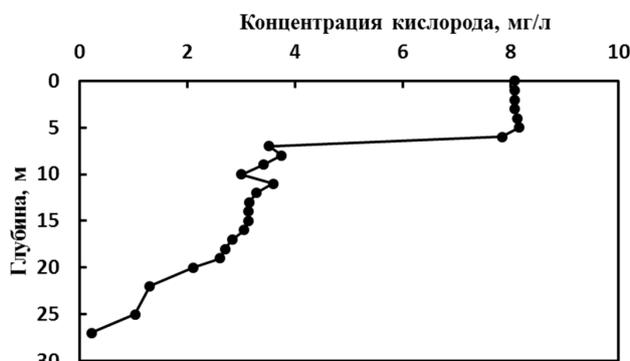


Рис. 3. Изменение концентрации кислорода с глубиной в оз. Сита
Fig. 3. Changes in oxygen concentration with depth in the lake Sita

Видовой состав и частота встречаемости (P, %) организмов макрозообентоса оз. Сита
Species composition and occurrence (P, %) of macrozoobenthos organisms in the lake Sita

Видовой состав	P
Тип Mollusca	
Класс Bivalvia Отр. Veneroidea Сем. Dreissenidae <i>Dreissena polymorpha</i> Pallas, 1771	28,6
Тип Nemathelminthes	
Класс Nematoda <i>Nematoda gen. spp.</i>	14,3
Тип Annelida	
Класс Clitellata Подкласс Oligochaeta <i>Oligochaeta gen. spp.</i>	100,0
Сем. Naididae <i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)	28,6
Подкласс Hirudinea Сем. Glossiphoniidae <i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)	14,3
Сем. Erpobdellidae <i>Erpobdella octoculata</i> (Linnaeus, 1758)	14,3
Тип Artropoda	
Подтип Crustacea Класс Malacostraca Отр. Isopoda Сем. Asellidae <i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	28,6
Отр. Amphipoda Сем. Pallaseidae <i>Pallaseopsis quadrispinosa</i> Sars, 1867	42,9
Сем. Gammaridae <i>Gammarus lacustris</i> G.O. Sars, 1863	14,3
Класс Insecta Отр. Ephemeroptera Сем. Caenidae <i>Caenis horaria</i> Linnaeus, 1758	28,6
<i>Caenis robusta</i> Eaton, 1884	14,3
Сем. Baetidae <i>Cloeon dipterum</i> (Linnaeus, 1761)	14,3
<i>Cloeon sp.</i>	14,3
Сем. Ephemeridae <i>Ephemera vulgata</i> Linnaeus, 1758	14,3
Отр. Trichoptera Сем. Ecnomidae <i>Ecnomus tenellus</i> (Rambur, 1842)	28,6
Сем. Hydroptilidae <i>Oxyethira sp.</i>	14,3
Сем. Leptoceridae <i>Mystacides longicornis</i> (Linnaeus, 1758)	14,3
Сем. Limnephilidae <i>Halesus radiatus</i> (Curtis, 1834)	25,0
Сем. Psychomyiidae	

Окончание таблицы

Видовой состав	Р
<i>Tinodes waeneri</i> (Linnaeus, 1758)	14,3
Отр. Megaloptera Сем. Sialidae <i>Sialis sp.</i>	14,3
Отр. Heteroptera Сем. Corixidae <i>Micronecta sp.</i>	14,3
Отр. Odonata Сем. Coenagrionidae <i>Ischnura sp.</i>	14,3
Сем. Aeshnidae <i>Aeshna viridis</i> (Eversmann, 1836)	42,9
Сем. Libellulidae <i>Sympetrum danae</i> (Sulzer, 1776)	14,3
Сем. Lestidae <i>Lestes sponsa</i> (Hansemann, 1823)	14,3
Отр. Coleoptera Сем. Haliplidae <i>Haliplus ruficollis</i> (De Geer, 1774)	28,6
Сем. Dytiscidae <i>Liopterus haemorrhoidalis</i> (Fabricius, 1787)	14,3
Отр. Lepidoptera Сем. Carambidae <i>Elophila nymphaeata</i> (Linnaeus, 1758)	14,3
Отр. Diptera Сем. Chironomidae <i>Chironomus gr. plumosus</i> (Meigen, 1830)	57,1
<i>Microtendipes pedellus</i> (De Geer, 1776)	28,6
<i>Cladotanytarsus mancus</i> (Walker, 1856)	42,9
<i>Cryptochironomus obreptans</i> (Walker, 1856)	28,6
<i>Sergentia gr. longivenstris</i> (Kieffer, 1924)	57,1
<i>Tanytarsus gregarius</i> Kieffer, 1909	71,4
<i>Polypedilum nubeculosum</i> (Meigen, 1804)	14,3
<i>Tanytarsus medius</i> Reiss et Fittkau, 1971	14,3
<i>Endochironomus impar</i> (Walker, 1856)	57,1
<i>Endochironomus donatoris</i> Shilova, 1974	71,4
<i>Glyptotendipes glaucus</i> (Meigen 1818)	14,3
<i>Stenochironomus gibbus</i> (Fabricius, 1794)	14,3
<i>Glyptotendipes gripekoveni</i> (Kieffer, 1913)	14,3
<i>Procladius choreus</i> (Meigen, 1804)	71,4
<i>Anatopynia plumipes</i> (Fries, 1823)	14,3
<i>Cricotopus laidentatus</i> (Chernovskij, 1949)	14,3
Сем. Chaoboridae <i>Chaoborus crystallinus</i> (De Geer, 1776)	57,1
Сем. Ceratopogonidae <i>Ceratopogonidae gen. spp.</i>	28,6
Сем. Tabanidae <i>Tabanidae gen. spp.</i>	14,3

Сравнительный анализ полученных данных в зависимости от глубины показал, что наиболее богатая фауна в оз. Сита наблюдается на глубине 1,2 м (24 таксона от вида и выше), наименьшее количество таксонов обнаружено на максимальной глубине – 27,6 м (4 таксона от вида и выше) (рис. 5). Основу видового разнообразия зообентоса на всех глубинах составляют представители Chironomidae (от 33 до 62,5 %).

При оценке разнообразия сообществ макрозообентоса и на разных глубинах использовали информационный индекс Шеннона (H), рассчитанный по численности таксонов (рис. 5). В целом показатели индекса повторяют ход видового богатства и уменьшаются с увеличением глубины. Доминирование отдельных таксонов было отмечено только на глубине 10 и 19,5 м ($D = 0,43$ и $D = 0,42$ соответственно). Количество таксонов зависело как от температуры ($r = 0,8$; $r \leq 0,05$), так и от содержания растворенного кислорода ($r = 0,84$; $r \leq 0,05$), что указывает на значительное влияние данных факторов на распределение зообентоса.

Наиболее просто получаемый показатель значимости вида в сообществе – его встречаемость (P , %). При этом различают абсолютную встречаемость – отношение количества проб, в которых обнаружен данный вид, к общему количеству проб и относительную встречаемость – отношение

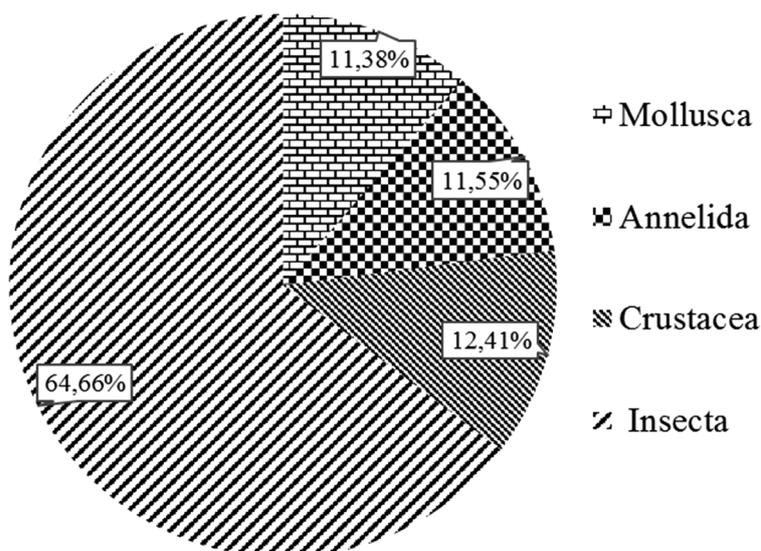


Рис. 4. Частота встречаемости основных таксономических групп в оз. Сита

Fig. 4. Frequency occurrence of the main taxonomic groups in the lake Sita

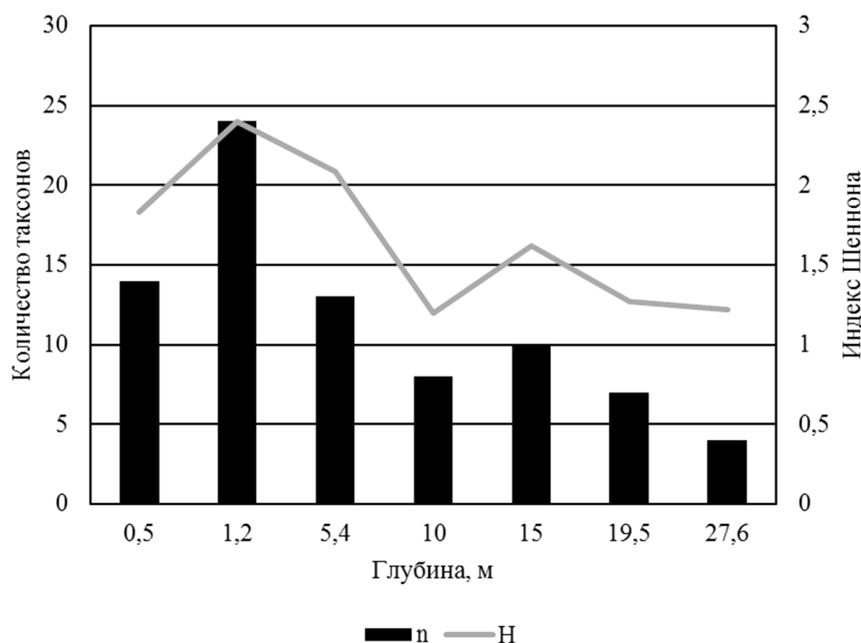


Рис. 5. Изменение видового богатства зообентоса (n) и индекса Шеннона (H) с глубиной

Fig. 5. Change in zoobenthos species richness (n) and Shannon index (H) with depth

абсолютной встречаемости к сумме регистраций всех видов в биоценозе. Наиболее часто употребляется следующая шкала встречаемости: константные виды – встречаемость более 50 %, второстепенные – 25–50, случайные – менее 25 % (см. таблицу) [9]. При обработке материала $P = 100\%$ был отмечен только для класса Oligochaeta и семейства Chironomidae (представители этих таксонов встречались на всех исследованных глубинах). Кроме того, к относительно эврибионтным организмам можно отнести некоторые виды хирономид, такие как *Tanytarsus gregarius*, *Endochironomus donatoris*, *Procladius choreus* ($P = 71,4\%$). С немного меньшим индексом встречаемости ($P = 57,1\text{--}42,9\%$) были и другие представители этого семейства: *Chironomus gr. plumosus*, *Cladotanytarsus mancus*, *Endochironomus impar*, *Sergentia gr. longivenstris*. В 57,1 % проб найден планкто-бентический *Chaoborus crystallinus*, который хорошо переносит недостаток растворенного кислорода. Реликтовый *Pallaseopsis quadrispinosa* (Sars, 1867) присутствовал на трех глубинах от 10 до 20 м ($P = 42,9\%$). Остальные приведенные в таблице таксоны найдены на исследованных глубинах с меньшей частотой. Причиной их малой встречаемости по станциям может быть их редкость в зообентосе или приуроченность к тем или иным условиям обитания.

Плотность популяций организмов формируется за счет взаимодействия организмов между собой и зависит от окружающих их экологических условий, а максимальная численность формируется при оптимальных условиях жизнедеятельности. На рис. 6 показана численность зообентоса по каждой обследованной глубине оз. Сита. Общая численность в зависимости от глубины менялась почти на два порядка – от $21,6 \pm 0,8$ до $1955,6 \pm 143,7$ экз/м². Наибольшая величина зафиксирована на глубине 10 м. Средняя численность зообентоса для всех глубин составила 918 экз/м², а без учета моллюсков – 796 экз/м². Корреляции общего распределения численности зообентоса по глубинам ни с температурой ($r = 0,065$; $r \geq 0,05$), ни с кислородом ($r = 0,191$; $r \geq 0,05$) не обнаружено.

Почти на всех исследованных глубинах преобладало по численности семейство Chironomidae, при этом распределение хирономид имело слабую отрицательную корреляцию как с температурой ($r = -0,273$; $r \geq 0,05$), так и с кислородом ($r = -0,099$; $r \geq 0,05$). И хотя данная корреляция и была статистически незначимой, распределение этой группы в большей степени зависело от температуры, чем от кислорода. На глубинах 1,2 и 5,4 м в доминанты вошла *Dreissena polymorpha* с численностью 607,4 и 370,4 экз/м², распределение численности этого моллюска имело среднюю по силе корреляцию как с температурой ($r = 0,698$; $r \geq 0,05$), так и с кислородом ($r = 0,673$; $r \geq 0,05$) и не была статистически значимой из-за малой выборки.

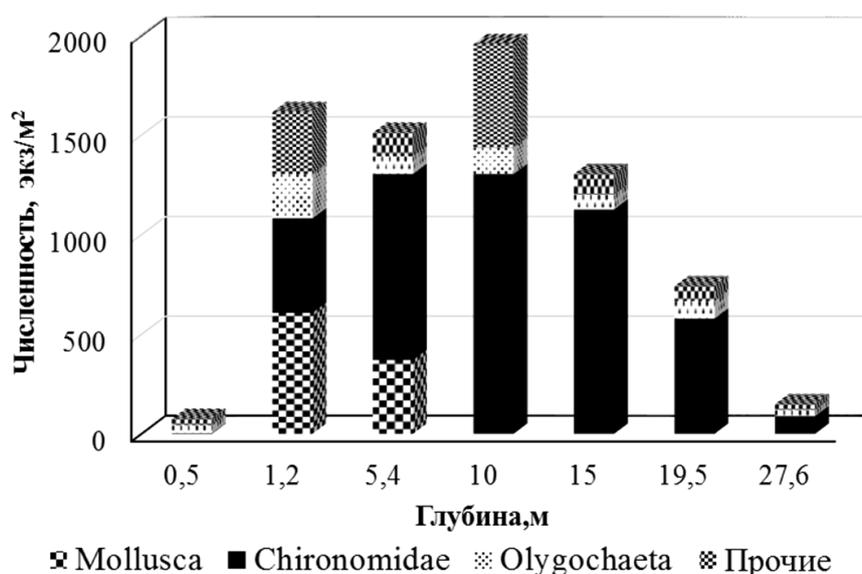


Рис. 6 . Изменение численности зообентоса на разных глубинах

Fig. 6. Change in the abundance of zoobenthos at different depth

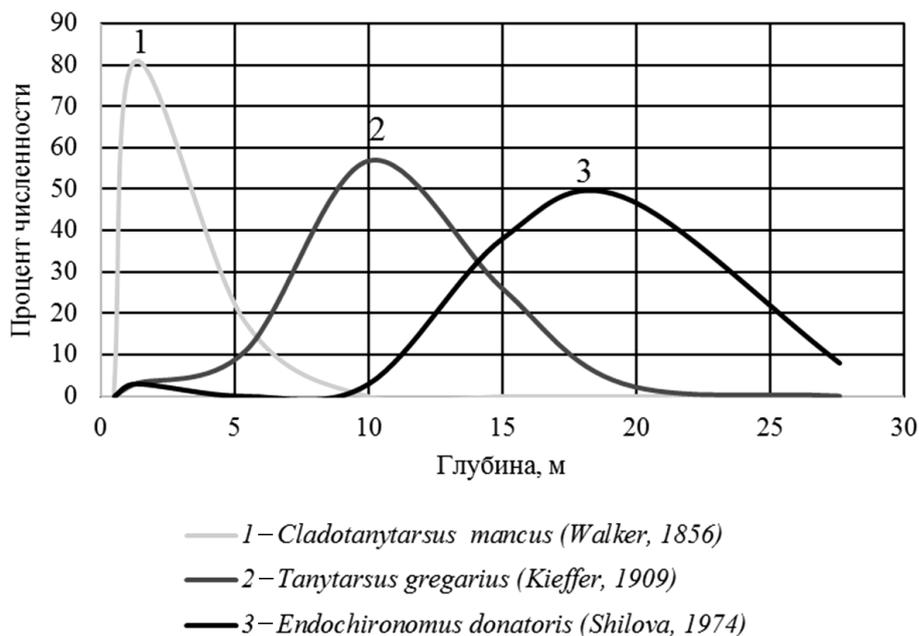


Рис. 7. Расположение массовых видов хирономид

Fig. 7. The location of the mass species of chironomids

На глубине 0,5 м наблюдались различия между незаросшей и заросшей прибрежной зоной: в «чистой» литорали доминировали представители класса Olygochaeta и семейства Ceratopogonidae с численностью 7,2 и 3,2 экз/м², а среди тростника на той же глубине наибольшую численность имели *Stylaria lacustris* и *Asellus aquaticus* – 28 и 8 экз/м². Кроме *Dreissena polymorpha* на глубине 1,2 м с повышенной численностью были отмечены олигохеты и два представителя семейства Chironomidae (*Cladotanytarsus mancus* и *Endochironomus impar* – по 133,3 экз/м²). Если *Cladotanytarsus mancus* был наиболее многочисленным только на данной глубине, а мельче и глубже, как показали наши исследования, был малочисленнее, то *Endochironomus impar* встречался обильно и глубже (максимальная плотность 141 экз/м² на глубине 15 м). Распределение *Cladotanytarsus mancus* согласуется с литературными данными о принадлежности его к прибрежной фауне, но не подтверждается для *Endochironomus impar*, которого относят к зарослевым формам.

На глубине 5,4 м наибольшая численность среди хирономид была у *Procladius choreus* (341 экз/м²), при этом его численность на соседних станциях была низкой. Связано это скорее всего с тем, что высокая численность этого вида обеспечивается за счет массового развития организмов микрозообентоса и олигохет, служащих для него важным объектом питания [10]. На глубине 10 м доминировал *Tanytarsus gregarius* – 1200 экз/м², оставаясь многочисленным и на глубине 15 м (545,3 экз/м²). *Endochironomus donatoris*, занимая глубины от 15 м (355,6 экз/м²), на глубинах 19,5 и 27,6 м оставался в доминантных видах с численностью 459,3 и 74,1 экз/м² соответственно.

Распределение по глубине наиболее многочисленных видов личинок хирономид показано на рис. 7. Указанные виды, хотя и были отмечены на нескольких станциях, развиваются преимущественно на той глубине, где имеются оптимальные абиотические и биотические условия для их жизнедеятельности. Изучение личинок хирономид в этом озере показало частичное или полное пространственное разделение экологических ниш для массовых видов.

Средняя численность реликтовой амфиподы *Pallaseopsis quadrispinosa* на 7 станциях составила 68 экз/м². Если же учитывать только три станции, где она встречается, то эта величина возрастает до 158 экз/м² (максимальная величина – 400 экз/м² на глубине 10 м). Распределение численности этого холодолюбивого вида схоже по температурным показателям с его распределением в оз. Южный Волос (оз. Сита – 7,9 °С; оз. Ю. Волос – 8,8 °С), а по концентрации кислорода – с оз. Северный Волос (оз. Сита – 3 мг/л; оз. С. Волос – 4,4 мг/л) [11]. Максимальная его численность

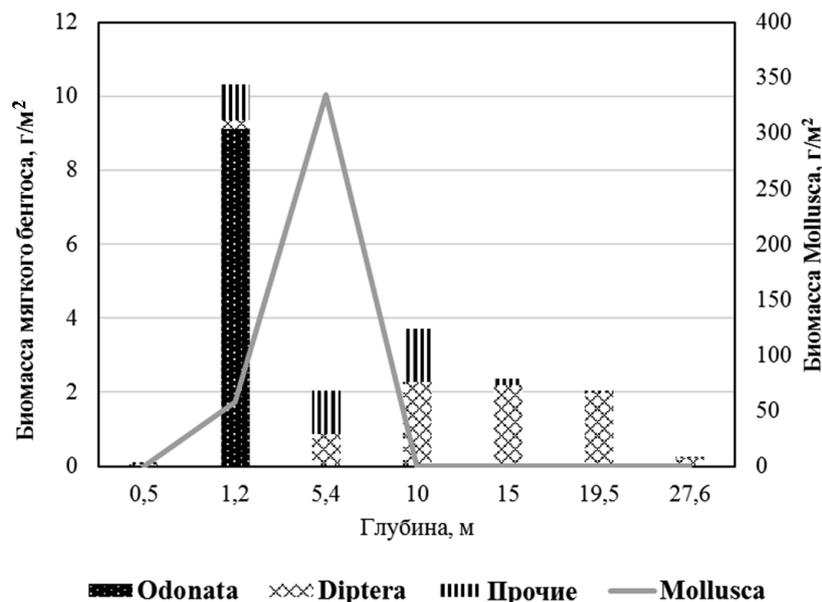


Рис. 8. Изменение общей биомассы «мягкого» зообентоса и моллюсков на разных глубинах

Fig. 8. Changes in the total biomass of “soft” zoobenthos and mollusca at different depths

во всех этих озерах отмечалась на глубине от 9 до 10 м. Другой вид амфипод *Gammarus lacustris* был найден только в литорали: в количественных пробах – единично в заросшем прибрежье, более часто – на погруженных предметах при ручном сборе. Оба вида полностью пространственно разделены.

На рис. 8 показаны значения биомассы зообентоса в зависимости от глубины и доля в ней различных таксономических групп. Наибольшее значение биомассы было зафиксировано на глубине 5,4 м за счет большого количества крупной *Dreissena polymorpha*. Максимальная биомасса, без учета моллюсков, зафиксирована на глубине 1,3 м. На этой глубине биомасса «мягкого» бентоса составляла 10,3 г/м², что примерно в 3 раза больше, чем на глубине 10 м, и в 5 раз больше, чем на остальных глубинах. Это связано с тем, что здесь были обнаружены крупные виды стрекоз – *Sympetrum danae* и *Lestes sponsa*, которые и составили примерно 9,1 г/м² «мягкого» бентоса. Средняя биомасса по изученным станциям с учетом моллюсков составила 51,7 г/м², а без них – 2,6 г/м². Такие значения массы «мягкого» бентоса соответствуют, по С. П. Китаеву [12], мезотрофному типу озер.

На остальных глубинах основной таксономической группой, которая составляла «мягкий» бентос, были хирономиды. Биомасса этих животных на изученных глубинах колебалась от минимальной (0,2 г/м²) на глубине 27,6 м до максимальной (2,2 г/м²) на глубине 10 и 15 м.

Заключение. Таким образом, впервые получены данные по зообентосу трансграничного (Беларусь – Латвия) оз. Сита. В составе зообентоса обнаружено 47 таксонов донных животных от вида и выше, что характеризует озеро как водоем с достаточно высоким видовым богатством. Без учета моллюсков основу численности и биомассы составили личинки хирономид. В составе донной фауны обнаружен ранее указанный охраняемый реликтовый вид *Pallaseopsis quadrispinosa*, занесенный в Красную книгу Беларуси. По средним величинам численности и биомассы (796 экз/м²; 2,6 г/м²) озеро относится к мезотрофному типу.

Неравномерность в распределении по глубине характерна как для всего сообщества, так и для отдельных его групп и видов. В целом таксономическое разнообразие снижается с увеличением глубины. Численность растет от прибрежья к глубине 10 м, а затем постепенно снижается (минимальные значения – на максимальных глубинах). Биомасса в точках отбора в значительной мере определялась наличием моллюсков, максимальные значения за счет этой группы отмечены на глубине 5,4 м.

Наблюдается хорошо выраженная корреляция таксономического разнообразия зообентоса с изменением температуры и кислорода, в меньшей мере выраженная для численности и не подтвержденная для биомассы.

Установлена приуроченность развития некоторых видов к определенным глубинам. Для близкородственных видов наблюдается частичное или полное разделение пространственных ниш.

Благодарности. Авторы выражают благодарность заведующему лаборатории гидробиологии, члену-корреспонденту НАН Беларуси В. П. Семенченко за ценные советы и замечания при написании статьи. Работа частично поддержана грантом Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Б18МС-16 и Б20МС-17.

Acknowledgements. The authors are grateful to the head of the Hydrobiology laboratory, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus V. P. Semenchchenko for valuable advice and comments when writing the article. This work is partially supported by Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, grant no. B18MS-16 and B20MS-17.

Список использованных источников

1. Озера Беларуси : справочник / Б. П. Власов [и др.]. – Минск : Минсктиппроект, 2004. – 284 с.
2. Вежновец, В. В. Результаты анализа многолетних данных по зоопланктону трансграничных озер Сита и Ричи / В. В. Вежновец, А. Шкуте, А. Г. Литвинова // Трансграничное сотрудничество в области экологической безопасности и охраны окружающей среды : материалы IV Международной науч.-практ. конф. (Гомель, 4–5 июня 2018 г.) / редкол. : О. В. Ковалева (гл. ред.) [и др.]. – Гомель, 2018. – С. 292–297.
3. Красная книга Республики Беларусь. Животные: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных / И. М. Кочановский [и др.]. – 4-е изд. – Минск : Беларус. энцыкл., 2015. – 320 с.
4. Качалова, О. Л. Отряд ручейники Trichoptera / О. Л. Качалова, Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / Г. Г. Винберг [и др.]; отв. ред. : Л. А. Кутиков, Я. И. Старобогатов [и др.]. – Л., 1977. – С. 477–510.
5. Лукин, Е. И. Класс пиявки Hirudinea / Е. И. Лукин, Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / Г. Г. Винберг [и др.]; отв. ред. : Л. А. Кутиков, Я. И. Старобогатов [и др.]. – Л., 1977. – С. 201–212.
6. Макаренко, Е. А. Семейство комары звонцы Chironomidae / Е. А. Макаренко, С. Я. Цалохин // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / под ред. С. Я. Цалолихина. – СПб., 1999. – Т. 4 : Высшие насекомые. Двукрылые. – С. 210–296.
7. Попова, А. Н. Отряд стрекозы Odonata / А. Н. Попова, Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / Г. Г. Винберг [и др.]; отв. ред. : Л. А. Кутиков, Я. И. Старобогатов [и др.]. – Л., 1977. – С. 266–287.
8. Лапука, И. И. Таксономический состав зообентоса озер Северный Волос и Южный Волос и его изменение с глубиной / И. И. Лапука, В. В. Вежновец // Природ. ресурсы. – 2019. – № 2. – С. 46–53.
9. Количественные методы экологии и гидробиологии : сб. науч. тр., посвящ. памяти А. И. Баканова / отв. ред. Г. С. Розенберг. – Тольятти : Ин-т биологии внутренних вод РАН, 2005. – 404 с.
10. Тодераш, И. К. Функциональное значение хирономид в экосистемах водоемов Молдавии / И. К. Тодераш. – Кишинев : Штиинца, 1984. – 172 с.
11. Лапука, И. И. Изменение количественных показателей зообентоса с глубиной в озерах Северный Волос и Южный Волос / И. И. Лапука, В. В. Вежновец // Природ. ресурсы. – 2010. – № 1. – С. 31–39.
12. Китаев, С. П. О соотношении некоторых трофических уровней и «шкалах трофности» озер разных природных зон / С. П. Китаев // V съезд Всесоюзного гидробиологического общества : тез. докл. : в 4 ч. / редкол. : Г. Г. Винберг (отв. ред.) [и др.]. – Куйбышев, 1986. – Ч. 2. – С. 254–255.

References

1. Vlasov B. P., Yakushko O. F., Gigevich G. S., Rachevskii A. N., Loginova E. V. *The lakes of Belarus*. Minsk, Minsktippprojekt Publ., 2004. 284 p. (in Russian).
2. Vezhnovets V. V., Shkute A., Litvinova A. G. Results of the analysis of long-term data on zooplankton of the cross-border (Belarus–Latvia) lake Richi. *Transgranichnoe sotrudnichestvo v oblasti ekologicheskoi bezopasnosti i okhrany okruzhayushchei sredy: materialy IV Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Gomel', 4–5 iyunya 2018 goda)* [Cross-border cooperation in the field of environmental safety and protection: materials of the IV International scientific and practical conference (Gomel, 4–5 June 2018)]. Gomel, 2018, pp. 292–297 (in Russian).
3. Kachanovskii I. M., Nikiforov M. E., Parfenov V. I., Borodin O. I., Pugachevskii A. V., Baichorov V. M., Gapienko O. S., Giryaev A. S., Evdaseva T. P., Dobritskaya E. A., Lemekhova D. D., Orsich O. I. *The Red Book of the Republic of Belarus. Animals: rare and endangered species of wild animals*. Minsk, Belaruskaya Entsiklopedyya Publ., 2015. 320 p. (in Russian).
4. Kachalova O. L., Kutikova L. A., Starobogatov Ya. I. *Trichoptera. Determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR*. Leningrad, 1977, pp. 477–510 (in Russian).

5. Lukin E. I., Kutikova L. A., Starobogatov Ya. I. *Hirudinea. Determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR*. Leningrad, 1977, pp. 201–212 (in Russian).
6. Makarchenko E. A., Tsalokhin S. Ya. Family mosquito bells Chironomidae. *Key to freshwater invertebrates of Russia and adjacent lands. Vol. 4. Higher insects. Diptera*. Saint Petersburg, 1999, pp. 210–296 (in Russian).
7. Popova A. N., Kutikova L. A., Starobogatov Ya. I. Odonata. *Determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR*. Leningrad, 1977, pp. 266–287 (in Russian).
8. Lapuka I. I., Vezhnovets V. V. Taxonomic composition of the zoobentos lake north and south Volos and its change with depth. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2019, no. 2, pp. 46–53 (in Russian).
9. Numerical methods of ecology and Hydrobiology: collection of scientific papers dedicated to the memory of A. I. Bakanov. Togliatti, Institute of Biology of Inland Waters. I. D. Papanin of the Russian Academy of Sciences, 2005. 404 p. (in Russian).
10. Toderash I. K. *Functional significance of chironomids in the ecosystems of reservoirs in Moldova*. Kishinev, Shtiintsa Publ., 1984. 172 p. (in Russian).
11. Lapuka I. I., Vezhnovets V. V. Change number of zoobenthos with depth in the lake north and south Volos. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2020, no. 1, pp. 31–39 (in Russian).
12. Kitaev S. P. On the ratio of certain trophic levels and “trophic scales” of lakes in different natural zones. *V s’ezd Vsesoyuznogo gidrobiologicheskogo obshchestva: tezisy dokladov. Chast’ 2* [V Congress of the All-Union hydrobiological society: abstracts. Part 2]. Kuibyshev, 1986, pp. 254–255 (in Russian).

Информация об авторах

Лапука Илья Игоревич – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ilya.lapua@yandex.ru

Вежновец Василий Васильевич – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vezhn47@mail.ru

Шкуте Артур Альбертович – профессор. Даугавпилский университет (ул. Виенибас, 13, г. Даугавпилс, Латвия). E-mail: arturs.skute@du.lv

Information about the authors

Ilya I. Lapuka – 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: ilya.lapua@yandex.ru

Vasil V. Vezhnavets – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, 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: vezhn47@mail.ru

Arturs A. Škute – Professor. Daugavpils University (13, Vienības Str., Daugavpils, Latvia). E-mail: arturs.skute@du.lv

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 592:591.951(476.7-476.2)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-64-73>

Поступила в редакцию 05.02.2020

Received 05.02.2020

Т. П. Липинская, М. Д. Мороз

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

АБОРИГЕННЫЕ И ЧУЖЕРОДНЫЕ ВИДЫ МАКРОЗООБЕНТОСА РЕК БЕЛОРУССКОЙ ЧАСТИ ДНЕПРОВСКОГО БАССЕЙНА

Аннотация. Исследованы реки бассейна Днепра на территории Беларуси. Обнаружен 201 низший определяемый таксон (НОТ) макрозообентоса, из которых 146 определены до вида. Выявленные животные относятся к 5 типам водных беспозвоночных: Cnidaria – 1 НОТ, Platyhelminthes – 1, Mollusca – 40, Annelida – 15, Arthropoda – 144 НОТ. Идентифицировано 12 чужеродных видов: 2 вида моллюсков и 10 ракообразных (8 видов амфипод и 2 вида мизид). Наибольшее видовое богатство и численность чужеродных видов обнаружены на створах р. Днепр в нижнем течении, а также в р. Сож. Выявлены охраняемые в Беларуси виды – моллюск *Unio crassus* Philipsson, 1788 и стрекозы *Anax imperator* Leach, 1815, *Ophiogomphus cecilia* (Fourcroy, 1785), *Gomphus flavipes* Charpentier, 1825, а кроме того, обнаружены новые места обитания чужеродного вида мизид *Paramysis lacustris* (Czerniavsky, 1882).

Ключевые слова: таксономическая структура, водные беспозвоночные, аборигенные и чужеродные виды, речные экосистемы, Центральный Европейский инвазионный коридор

Для цитирования: Липинская, Т. П. Аборигенные и чужеродные виды макрозообентоса рек белорусской части Днепровского бассейна / Т. П. Липинская, М. Д. Мороз // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 64–73. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-64-73>

Tatsiana P. Lipinskaya, Michail D. Moroz

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

NATIVE AND ALIEN SPECIES OF MACROZOOBENTHOS IN RIVERS OF THE BELARUSIAN PART OF THE DNIEPER RIVER BASIN

Abstract. The Dnieper River basin in Belarus was studied in 2016–2019. In total, 201 species and forms of macrozoobenthos were found and 146 of them were identified to the species level. New habitats of several protected species (*Unio crassus* Philipsson, 1788, *Anax imperator* Leach, 1815, *Ophiogomphus cecilia* (Fourcroy, 1785) and *Gomphus flavipes* Charpentier, 1825) and one alien species (*Paramysis lacustris* (Czerniavsky, 1882)) have been recorded in Belarus.

Keywords: taxonomic structure, aquatic invertebrates, native and non-indigenous species, river ecosystems, Central European invasion corridor

For citation: Lipinskaya T. P., Moroz M. D. Native and alien species of macrozoobenthos in rivers of the Belarusian part of the Dnieper River basin. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 64–73 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-64-73>

Введение. Сообщество макрозообентоса является важным системообразующим элементом разнообразных природных комплексов текучих и стоячих континентальных водоемов. Представители макрозообентоса являются одной из самых многочисленных групп водных беспозвоночных, обитающих в текучих водоемах. Их часто используют для биоиндикации качества поверхностных вод, являющейся составной частью мониторинга экологического состояния водной среды. Следует также отметить, что трансграничные водотоки могут служить важным коридором для переноса чужеродных видов. К сожалению, необходимо признать, что в настоящее время базовые данные о видовом составе и численности представителей макрозообентоса, обитающих в бассейне р. Днепр, все еще недостаточно изучены.

Цель настоящего исследования – выявление таксономической структуры сообщества макрозообентоса, определение видового состава и доли чужеродных видов в сообществе макрозообентоса в реках Днепр, Сож и Березина на территории Беларуси.

Характеристика района исследований. Днепр является четвертой по длине и площади бассейна рекой Европы и первой по величине и водности рекой, протекающей по территории Беларуси. Длина р. Днепр в естественном состоянии составляла 2285 км, а после постройки каскада водохранилищ на территории Украины – 2201 км: в пределах Украины – 1121 км, в пределах Беларуси – 595, в пределах России – 485 км. Площадь бассейна – 504 тыс. км², площадь водосбора – 225 тыс. км². Русло извилистое, с плавными излучинами, изобилует перекатами и мелями. Среднегодовой расход воды у г. Орша – 123 м³/с, а у г. Речица – 364 м³/с. Вода гидрокарбонатно-кальциевого класса, умеренно жесткая, повышенной и средней минерализации, цветность воды умеренная, содержание кислорода – от 50 до 120 % насыщения. Типы донных отложений: ниже г. Речицы – песчано-илистые, ниже г. Лоев – песчаные [1, 2].

Сож – один из крупнейших по величине и водности притоков р. Днепр. Общая протяженность – 648 км, из которых верховье на протяжении 155 км относится к России. Общая площадь водосбора – 42,1 тыс. км², в пределах Беларуси – 21,7 тыс. км². Вода в реке гидрокарбонатно-кальциевого класса, умеренно жесткая, средней минерализации, цветность низкая, наличие кислорода – от 5 до 11 мг/дм³. Тип донных отложений: ниже г. Гомель – песчано-илистые [1, 2].

Березина, правый приток р. Днепр, – самая длинная река, которая на всем своем течении расположена в Беларуси. Длина реки – 613 км, площадь бассейна – 24,5 тыс. км². Вода гидрокарбонатно-кальциевого состава, средней минерализации, умеренно жесткая; активная реакция среды нейтральная и слабощелочная (6,8–7,9); содержание кислорода – 9–12 мг/дм³, в зимнюю межень уменьшается до 2,5–3,5 мг/дм³. Тип донных отложений: ниже г. Светлогорск – песчано-илистые [1, 2].

Материалы и методика исследований. Сборы и наблюдения, послужившие материалом для данной работы, были проведены в мае, июне и сентябре 2016–2019 гг.

Взятие проб осуществляли при помощи стандартного гидробиологического сачка (25×25 см, 500 мкм) методом траления в прибрежной части водотока на глубине 0,5–0,7 м. Отбор проб производили согласно условиям Европейского протокола, AQEM и стандарта ISO 7828. Кроме того, на каменистых грунтах и в местах развития макрофитов при необходимости осуществляли выемку камней и коряг и их последующий осмотр для сбора беспозвоночных.

При описании таксономического богатства представителей макрозообентоса использовали термин NOT – низший определяемый таксон [3]. Определение отдельных систематических групп, таких как Oligochaeta и Diptera, ограничено крупными таксонами.

За время исследований было изучено 9 створов на реках Днепр, Сож и Березина в границах Беларуси (табл. 1).

Таблица 1. Створы отбора проб в водотоках бассейна р. Днепр
Table 1. Sampling sites in the rivers of the Dnieper River basin

Наименование водотока	Ближайший населенный пункт	Координаты
р. Днепр	д. Нижние Жары (Брагинский р-н, Гомельская обл.)	51°17'40.5"N; 30°34'21.1"E
р. Днепр	г. Лоев (Лоевский р-н, Гомельская обл.)	51°57'36.4"N; 30°47'39.1"E
р. Днепр	г. Речица (Речицкий р-н, Гомельская обл.)	52°19'20"N; 30°31'30.1"E
р. Сож	д. Ченки (Гомельский р-н, Гомельская обл.)	52°18'09.9"N; 30°56'44.0"E
р. Березина	г. п. Паричи (Светлогорский р-н, Гомельская обл.)	52°48'11.9"N; 29°25'54.1"E
р. Березина	д. Панюшковичи (Бобруйский р-н, Могилевская обл.)	53°14'06.1"N; 29°10'50.6"E
р. Днепр	д. Буйничи (Могилевский р-н, Могилевская обл.)	53°50'47.9"N; 30°16'21.4"E
р. Днепр	г. Могилев (Могилевский р-н, Могилевская обл.)	53°58'51.7"N; 30°23'43.5"E
р. Днепр	г. Орша (Оршанский р-н, Витебская обл.)	54°32'38.8"N; 30°27'44.9"E

Собрано и определено 32 644 экз. представителей макрозообентосного комплекса, находящихся на личиночной и имагинальной стадиях развития.

Результаты и их обсуждение. Выполненные исследования позволили идентифицировать на изученных створах 201 NOT макрозообентоса, относящийся к 5 типам водных беспозвоночных животных: Cnidaria – 1 NOT, Platyhelminthes – 1, Mollusca – 40, Annelida – 15 и Arthropoda – 144 NOT, из которых было идентифицировано 146 видов макрозообентоса (табл. 2).

Таблица 2. Видовой состав и распределение макрозообентоса на створах рек бассейна р. Днепр в период 2016–2019 гг., экз.

Table 2. Species composition and distribution of macrozoobenthos on the sites of the Dnieper River basin in 2016–2019, ind.

Таксон, вид	Створы									Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Тип Cnidaria Класс Hydrozoa										
<i>Hydridae gen. spp.</i>	8		4	4	4					20
Тип Platyhelminthes Класс Turbellaria										
<i>Planariidae gen. spp.</i>				4	2					6
Тип Mollusca Класс Gastropoda										
<i>Theodoxus fluviatilis</i> (Linnaeus, 1758)	22	40	197	33		34		57	3	386
<i>Viviparus viviparus</i> (Linnaeus, 1758)	199	164	365	102	294	283	14	36	3	1460
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (C. Pfeiffer, 1828)	10	36	1	509		52		57		665
<i>Bithynia tentaculata</i> (Linnaeus, 1758)	56	14	10	28	67	66	2	16	3	262
<i>Valvata cristata</i> O. F. Müller, 1774	1									1
<i>Valvata macrostoma</i> Mörch, 1864	1									1
<i>Valvata piscinalis</i> (O. F. Müller, 1774)	2	10		11	5		4	1	3	36
<i>Aeroloxus lacustris</i> (Linnaeus, 1758)	3					1				4
<i>Galba truncatula</i> (O. F. Müller, 1774)			3						1	4
<i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	19	15	3	2	1	3	5		1	49
<i>Radix ampla</i> (Hartmann, 1841)				1						1
<i>Radix auricularia</i> (Linnaeus, 1758)	9	1								10
<i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	17	22	7	17	8	14		1	1	87
<i>Radix sp.</i>						2				2
<i>Stagnicola corvus</i> (Gmelin, 1791)	1			1						2
<i>Stagnicola palustris</i> (O. F. Müller, 1774)	8	1								9
<i>Lymnaeidae gen. spp.</i>	3			3						6
<i>Physa fontinalis</i> (Linnaeus, 1761)	18	4	8	1	3	1				35
<i>Anisus vortex</i> (Linnaeus, 1758)	15			1		1				17
<i>Bathyomphalus contortus</i> (Linnaeus, 1758)	1									1
<i>Gyraulus albus</i> (O. F. Müller, 1774)	46	8		9	30	4				97
<i>Gyraulus crista</i> (Linnaeus, 1758)	5				1					6
<i>Planorbarius corneus</i> (Linnaeus, 1758)	1			1		1				3
<i>Planorbis carinatus</i> O. F. Müller, 1774	1	1		1	1					4
<i>Planorbis planorbis</i> (Linnaeus, 1758)	4									4
<i>Segmentina nitida</i> (O. F. Müller, 1774)	6				1					7
Класс Bivalvia										
<i>Anodonta anatina</i> (Linnaeus, 1758)						1				1
<i>Unio crassus</i> Philipsson, 1788								1	1	2
<i>Unio pictorum</i> (Linnaeus, 1758)		1								1
<i>Unio sp.</i>				15	1					16
<i>Pisidium amnicum</i> O. F. Müller, 1774					1			2		3
<i>Pisidium casertanum</i> (Poli, 1791)		2		4	14					20
<i>Pisidium henslowanum</i> (Sheppard, 1823)				14	5	3				22
<i>Pisidium moitessierianum</i> Paladilhe, 1866							1			1
<i>Pisidium subtruncatum</i> Malm, 1855				17	42	1				60
<i>Pisidium sp.</i>		1		10	2	5				18
<i>Sphaerium corneum</i> Linnaeus, 1758						2				2
<i>Sphaerium rivicola</i> (Lamarck, 1818)	3	9	38		10	10				70
<i>Sphaerium sp.</i>						4			1	5
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)	4		2	7	22	3	1			39

Продолжение табл. 2

Таксон, вид	Створы									Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Тип Annelida										
Класс Oligochaeta										
<i>Eiseniella tetraedra</i> (Savigny, 1826)					2					2
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)	93	42	15	46	41	63	9	21	5	335
<i>Oligochaeta gen. spp.</i>	237	340	173	51	78	15	66	24	5	989
Класс Hirudinea										
<i>Haemopsis sanguisuga</i> (Linnaeus, 1758)	1				1	1				3
<i>Boreobdella verrucata</i> (F. Müller, 1844)					2					2
<i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)	3			1	2					6
<i>Glossiphonia heteroclita</i> (Linnaeus, 1761)	10	1	1							12
<i>Helobdella stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	3	1	1		1					6
<i>Hemiclepsis marginata</i> (O. F. Müller, 1774)	5			3						8
<i>Placobdella costata</i> (Fr. Müller, 1846)		1								1
<i>Theromyzon maculosum</i> (Rathe, 1862)	1		1							2
<i>Glossiphonia sp.</i>	1									1
<i>Piscicola geometra</i> (Linnaeus, 1761)	15		1			4				20
<i>Erpobdella octoculata</i> (Linnaeus, 1758)	21	2	1	2						26
<i>Erpobdella nigricollis</i> (Brandes, 1899)	3									3
Тип Artropoda										
Класс Arachnida										
<i>Argyroneta aquatica</i> (Clerck, 1757)		1		2	1					4
<i>Tetragnatha extensa</i> (Linnaeus, 1758)	1			1			1			3
<i>Pirata sp.</i>					1					1
<i>Hydracarina gen. spp.</i>	20	5		10	1			56	2	94
Класс Crustacea										
<i>Argulus foliaceus</i> Linnaeus, 1758		3		1						4
<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	11	8	2	106	142	28			24	321
<i>Dikerogammarus haemobaphes</i> (Eichwald, 1841)	13	1	187	6	79	148	3			437
<i>Dikerogammarus villosus</i> (Sowinsky, 1894)	26	2	48							79
<i>Echinogammarus ischnus</i> (Stebbing, 1899)	3		14							17
<i>Obesogammarus crassus</i> (Sars, 1894)	49	5	1	1						56
<i>Obesogammarus obesus</i> (Sars, 1894)		3	2							5
<i>Pontogammarus robustoides</i> (G. O. Sars, 1894)	17									17
<i>Gammaridae gen. spp.</i>	14	65	208	31	90	33				441
<i>Chelicorophium curvispinum</i> Sars, 1895	103	60	123	8	127	42				463
<i>Chelicorophium robustum</i> (G. O. Sars, 1895)	2	2								4
<i>Corophiidae gen. spp.</i>	1		39	39	39	16				134
<i>Limnomysis benedeni</i> Czerniavsky, 1882	96									96
<i>Paramysis lacustris</i> (Czerniavsky, 1882)	2	1	69							72
<i>Mysidae gen. spp.</i>	15									15
Класс Insecta										
<i>Podura aquatica</i> (Linnaeus, 1758)	2	1		73		1				77
<i>Isotoma viridis</i> Bourlet, 1839	2		1	3						6
<i>Proisotoma ripicola</i> Linnaniemi, 1912	15	1								16
<i>Sminthurides aquaticus</i> (Bourlet, 1843)					1					1
<i>Isoptena serricornis</i> (Pictet, 1841)						1				1
<i>Nemoura cinerea</i> (Retzius, 1783)	3					3				6
<i>Isoperla grammatica</i> (Poda, 1761)									1	1
<i>Isoperla obscura</i> (Zetterstedt, 1840)								1		1
<i>Cloeon simile</i> Eaton, 1870	582	355	95	329	275	112	11			1759
<i>Procloeon bifidum</i> Bengtsson, 1912				8	3	4		153		168
<i>Baetis fuscatus</i> (Linnaeus, 1761)	12	1	10		12	177	7			219
<i>Baetis tracheatus</i> Keffermüller et Machel, 1967			1				9			10

Таксон, вид	Створы									Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Baetis vernus</i> Curtis, 1834			5		2	11	51	59		128
<i>Baetis</i> sp.					20	12	3			35
<i>Caenis horaria</i> (Linnaeus, 1758)						2				2
<i>Caenis macrura</i> (Stephens, 1835)		1		2		3	1	18		25
<i>Caenis robusta</i> Eaton, 1884	517	270	57	39	7	5				895
<i>Caenis</i> sp.	2	20			1	1	1	12		37
<i>Ephemerella ignita</i> (Poda, 1761)								3		3
<i>Ephemera</i> sp.						2		1		3
<i>Arthroplea congener</i> Bengtsson, 1908				1						1
<i>Heptagenia flava</i> (Rostock, 1877)		1				15		11	2	29
<i>Heptagenia fuscogrisea</i> (Retzius, 1793)			1	1						2
<i>Heptagenia sulphurea</i> (Müller, 1776)						10		1		11
<i>Heptagenia</i> sp.				1		21	10	12	1	45
<i>Paraleptophlebia submarginata</i> (Stephens, 1835)					1					1
<i>Siphonurus aestivalis</i> (Eaton, 1903)			2	1						3
<i>Hydropsyche contubernalis</i> McLachlan, 1865		1	11		1	19	1	36		69
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834)								4		4
<i>Hydropsyche</i> sp.	1					6	9			16
<i>Neureclipsis bimaculata</i> (Linnaeus, 1761)	2			3	15	13	5	2		40
<i>Polycentropus irroratus</i> (Curtis, 1834)	18					2				20
<i>Polycentropus</i> sp.	6									6
<i>Tinodes waeneri</i> (Linnaeus, 1758)							1			1
<i>Agrypnia varia</i> (Fabricius, 1793)					1					1
<i>Anabolia</i> sp.		2				7				9
<i>Glyptotaelius pellucidus</i> (Retzius, 1783)			1							1
<i>Limnephilus flavicornis</i> (Fabricius, 1787)				2	1					3
<i>Limnephilus rhombicus</i> (Linnaeus, 1758)			2		1	3				6
<i>Limnephilus stigma</i> Curtis, 1834									2	2
<i>Limnephilus</i> sp.					2	14				16
<i>Brachycentrus subnubilus</i> Curtis, 1834						77				77
<i>Agraylea sexmaculata</i> Curtis, 1834						1				1
<i>Agraylea</i> sp.					1					1
<i>Hydroptila</i> sp.				2	16	52	34	5	17	126
<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873								1		1
<i>Orthotrichia</i> sp.	36	19	14	11	57	8				145
<i>Oxyethira</i> sp.	3				1					4
<i>Ceraclea fulva</i> (Rambur, 1842)					1	4				5
<i>Leptocerus tineiformis</i> Curtis, 1834	58	1	16	34	6	3			1	119
<i>Mystacides azurea</i> (Linnaeus, 1761)	14					1				15
<i>Mystacides longicornis</i> (Linnaeus, 1758)					9	2				11
<i>Mystacides nigra</i> (Linnaeus, 1758)					1					1
<i>Mystacides</i> sp.					2		1			3
<i>Triaenodes bicolor</i> (Curtis, 1834)	2					1				3
<i>Triaenodes conspersus</i> Rambur, 1842	2									2
<i>Oecetis lacustris</i> (Pictet, 1834)	1			4						5
<i>Oecetis testacea</i> (Curtis, 1834)	1									1
<i>Leptoceridae</i> gen. sp.						1				1
<i>Calopteryx splendens</i> (Harris, 1782)		1	1		12	10	4		7	35
<i>Calopteryx virgo</i> (Linnaeus, 1758)			1		6	3	1			11
<i>Calopteryx</i> sp.	1		3			3	1			8
<i>Coenagrion puella</i> Linnaeus, 1758	80	1		10	5	2				98
<i>Coenagrion pulchellum</i> (Vander Linden, 1825)	87	21	35	11	21	3	1			179
<i>Coenagrion</i> sp.	281	116	59	20	47	15	10			548
<i>Erythromma najas</i> (Hansemann, 1823)	35	20	14	2	9	6	2			88

Продолжение табл. 2

Таксон, вид	Створы									Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Ischnura elegans</i> Vander Linden, 1820		5								5
<i>Coenogrionidae</i> gen. spp.	5									5
<i>Platycnemis pennipes</i> (Pallas, 1771)			2	1	2	7		1	3	16
<i>Gomphus flavipes</i> Charpentier, 1825								1		1
<i>Gomphus vulgatissimus</i> (Linnaeus, 1758)				1						1
<i>Ophiogomphus cecilia</i> (Fourcroy, 1785)								2		2
<i>Anax imperator</i> Leach, 1815	8	2								10
<i>Orthetrum cancellatum</i> (Linnaeus, 1758)				5						5
<i>Nepa cinerea</i> Linnaeus, 1758	1		3			1				5
<i>Ranatra linearis</i> (Linnaeus, 1758)	4	2		1	3	1	1			12
<i>Notonecta glauca</i> (Linnaeus, 1758)					1	1				2
<i>Plea minutissima</i> Leach, 1817	14	3	12	14	1					44
<i>Aphelocheirus aestivalis</i> (Fabricius, 1794)						1		1		2
<i>Ilyocoris cimicoides</i> (Linnaeus, 1758)	11	2	3	10		11				37
<i>Cymatia coleoprata</i> (Fabricius, 1777)	2									2
<i>Sigara falleni</i> (Fieber, 1848)				1			1			2
<i>Sigara striata</i> (Linnaeus, 1758)		1	4	1	1		1			8
<i>Sigara</i> sp.	3					2	1			6
<i>Micronecta griseola</i> Horváth, 1899						6				6
<i>Micronecta</i> sp.	3	3	10	7		166	14			203
<i>Corixidae</i> gen. spp.							4			4
<i>Mesovelia furcata</i> Mulsant et Rey, 1852	12									12
<i>Aquarius paludum</i> (Fabricius, 1794)						1				1
<i>Gerridae</i> gen. spp.						1				1
<i>Haliplus fluviatilis</i> Aubé, 1836		5	1	10	1	2				19
<i>Haliplus</i> sp.	2	7		42	1					52
<i>Pelodytes caesus</i> (Duftschmid, 1805)	13		2							15
<i>Laccophilus hyalinus</i> (De Geer, 1774)		2		1	1	2		1		7
<i>Platambus maculatus</i> (Linnaeus, 1758)						1				1
<i>Rhantus latitans</i> Sharp, 1882		1	2							3
<i>Dytiscidae</i> gen. spp.	3	2		10	3	5				23
<i>Hydrochus ignicollis</i> Motschulsky, 1860				1						1
<i>Anacaena lutescens</i> (Stephens, 1829)							1			1
<i>Cercyon marinus</i> Thomson, 1853				1						1
<i>Laccobius minutus</i> (Linnaeus, 1758)			1			1	2			4
<i>Laccobius</i> sp.	1	1					2			4
<i>Hydrophilidae</i> gen. sp.							1			1
<i>Hydraena</i> sp.							2			2
<i>Limnebius</i> sp.			1							1
<i>Ochthebius minimus</i> (Fabricius, 1792)			2			1				3
<i>Helophorus minutus</i> Fabricius, 1775						1				1
<i>Oulimnius tuberculatus</i> (Müller, 1806)						2				2
<i>Elmidae</i> gen. spp.	1									1
<i>Helophorus griseus</i> Herbst, 1793							1			1
<i>Dryops griseus</i> (Erichson, 1847)			1							1
<i>Helodes</i> sp.	12									12
<i>Scirtidae</i> sp.	2									2
<i>Donacia</i> sp.	1									1
<i>Chaoboridae</i> gen. spp.				1						1
<i>Ceratopogonidae</i> gen. spp.	29	7	13	26	4	18	172	9	17	295
<i>Chironomidae</i> gen. spp.	1441	1286	4114	392	1188	1842	4149	344	1256	16 012
<i>Dixidae</i> gen. spp.							13			13
<i>Limoniidae</i> gen. spp.					2		1			3

Окончание табл. 2

Таксон, вид	Створы									Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Psychodidae gen. spp.</i>		2		1						3
<i>Simuliidae gen. spp.</i>	14	619	692		329	1471	304	11	4	3444
<i>Stratiomyidae gen. spp.</i>	7			1						8
<i>Tabanidae gen. spp.</i>	1	1			1					3
<i>Cataclysta lemnata</i> (Linnaeus, 1758)	10	1	3	1	2	2				19
<i>Parapoynx stratiotata</i> (Linnaeus, 1758)	13	2	3	1	1	4				24
Число экземпляров	4605	3658	6722	2189	3199	5027	4939	961	1364	32 644
Число НОТ	103	71	65	80	81	94	47	34	24	201

Примечание. Створы: 1 – р. Днепр, д. Нижние Жары; 2 – р. Днепр, г. Лоев; 3 – р. Днепр, г. Речица; 4 – р. Сож, д. Ченки; 5 – р. Березина, г. п. Паричи; 6 – р. Березина, д. Панюшковичи; 7 – р. Днепр, д. Буйничи; 8 – р. Днепр, г. Могилев; 9 – р. Днепр, г. Орша. Чужеродные виды выделены полужирным шрифтом.

Среди собранных водных беспозвоночных животных выявлено 134 аборигенных и 12 чужеродных видов, что составило 91,8 и 8,2 % от общего количества видов макрозообентоса на изученных створах рек за исследуемый период.

Наиболее многочисленной по видовому разнообразию группой в составе макрозообентоса были личинки и имаго водных насекомых – 85 видов, что составило 58,2 % от общего числа зарегистрированных видов макрозообентоса в изученных створах. Они же преобладали и по численности – 84,8 % от общего количества обнаруженных представителей макрозообентоса. Также было выявлено 35 видов брюхоногих и двустворчатых моллюсков, которые составили 23,9 % видового богатства и 10,5 % от относительной численности макрозообентоса на изученных створах рек за исследуемый период. Представителей ракообразных было идентифицировано 12 видов (8,2 % от общего числа зарегистрированных видов макрозообентоса), которые составили 6,6 % от общей численности беспозвоночных за исследуемый период.

Видовое богатство остальных таксономических групп животных было незначительным.

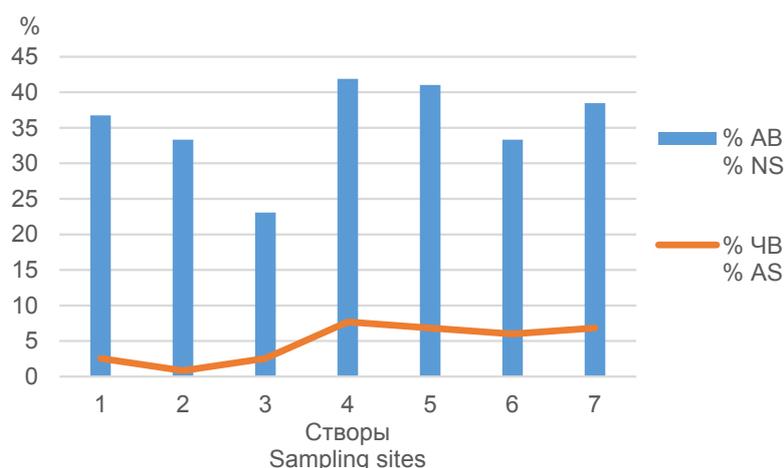
Аборигенные виды макрозообентоса. Таксономическое разнообразие аборигенных видов макрозообентоса на створах изученных рек изменялось от 24 НОТ в р. Днепр (г. Орша) до 89 НОТ в р. Днепр (окрестности д. Нижние Жары) (см. рисунок), что соответствует правилу речного континуума, которое не выполняется при рассмотрении рек разного порядка при бассейновом подходе [4].

Наибольшее относительное видовое разнообразие аборигенных видов среди изученных рек было характерно для створов рек Березина (д. Панюшковичи) и Днепр (д. Нижние Жары), на долю которых пришлось 44 и 43 % соответственно от всех выявленных за период исследования видов (см. рисунок). На остальных створах исследуемых рек данный показатель изменялся в пределах 11–37 %. Наименьшее относительное видовое разнообразие было отмечено на створе р. Днепр в г. Орша. Можно предположить, что это связано с некоторыми экологическими проблемами, так как данный створ находился в черте города.

Обнаружены также новые места обитания охраняемых в Беларуси видов: моллюска – *Unio crassus* Philipsson, 1788 и стрекоз – *Anax imperator* Leach, 1815, *Ophiogomphus cecilia* (Fourcroy, 1785) и *Gomphus flavipes* Charpentier, 1825.

Unio crassus Philipsson, 1788 (сем. Unionidae) имеет III категорию национального природоохранного статуса [5]. Международная охрана – EN A2ce ver. 3.1 (IUCN). Вид включен во II и VI приложения Директивы Совета Европы и в Приложение III Бернской конвенции. В Беларуси немногочислен и встречается отдельными изолированными популяциями [6]. Обитает в чистых реках с прозрачной, быстро текущей водой на песчаных, песчано-илистых и галечных грунтах. В озерах и прудах, как правило, не встречается. **Материал:** р. Днепр, г. Могилев, 07.05.2019 – 1 экз.; р. Днепр, г. Орша (Витебская обл.), 06.05.2019 – 1 экз.

Anax imperator Leach, 1815 (сем. Aeschnidae) имеет национальный природоохранный статус III категории [5]. Международная охрана – Приложение II Бернской конвенции, статус: Least



Процентное соотношение числа аборигенных (АВ) и чужеродных (ЧВ) видов макрозообентоса на створах рек бассейна р. Днепр за период исследования 2016–2019 гг. Нумерация створов соответствует приведенным в табл. 2.

Percentage of native (NS) and alien (AS) species of macrozoobenthos on the sampling sites of the Dnieper River basin in 2016–2019. Numbering of the sampling sites corresponds to the Tab. 2.

Concern (LC), ver. 3.1 (по данным IUCN Red List of Threatened Species версии 2013.2). В Беларуси известны немногочисленные находки, вид распространен локально, существуют отдельные популяции. Личинки обитают в водоемах, как в открытых, так и в лесных ландшафтах. Имаго могут улетать на большие расстояния (до 10 км) от места их выхода. *Материал*: р. Днепр, д. Нижние Жары (Брагинский р-н, Гомельская обл.), 09.05.2016 – 2 личинки (лич.); 16.09.2016 – 6 лич.; р. Днепр, г. Лоев (Гомельская обл.), 16.09.2016 – 2 лич.

Ophiogomphus cecilia (Fourcroy, 1785) (сем. Gomphidae) имеет IV категорию национального природоохранного статуса [5]. Международный статус охраны: Приложение II Бернской конвенции, статус: Least Concern (LC), ver. 3.1 (по данным IUCN Red List of Threatened Species версии 2013.2). Известны единичные находки по всей территории Беларуси. Личинки – типичные реофилы, предпочитают водоемы с чистой прозрачной водой, с более или менее сильным течением и песчаным дном. *Материал*: р. Днепр, г. Могилев, 10.06.2018 – 2 лич.

Gomphus flavipes Charpentier, 1825 (сем. Gomphidae) является слабо изученным видом, требующем внимания, имеет категорию охраны DD [5]. Вид охраняется в ряде европейских стран – Люксембурге (категория охраны CR), Великобритании (категория охраны V, охраняется с 1818 г.), Латвии. Личинки живут в реках, зарываясь в ил или песок. Обитает в проточных водоемах на глинистом и глинисто-песчаном грунте, а также в пойменных водоемах, где могут переносить даже пересыхание. *Материал*: р. Днепр, г. Могилев, 07.05.2019 – 1 лич.

Следует также отметить только вторую нашу находку личинки поденки *Arthroplea congener* Bengtsson, 1908 (сем. Heptagenia) в Беларуси [7]. Ранее этот вид был указан для р. Припять, выше впадения р. Словечна [8]. Вид включен в Красный список Польши, категория охраны VU [9]. *Материал*: р. Сож, д. Ченки (Гомельский р-н, Гомельская обл.), 09.05.2016 – 1 лич.

Чужеродные виды макрозообентоса. За время исследований было идентифицировано в сборах 12 из 24 известных на данный момент чужеродных видов макрозообентоса в Беларуси. К ним относятся 2 вида моллюсков – *Lithoglyphus naticoides* (Pfeiffer, 1828) и *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), 8 видов амфипод – *Chelicorophium curvispinum* Sars, 1895, *Chelicorophium robustum* (Sars, 1895), *Dikerogammarus haemobaphes* (Eichwald, 1841), *Dikerogammarus villosus* (Sowinsky, 1894), *Echinogammarus ischnus* (Stebbing, 1898), *Obesogammarus crassus* (Sars 1894), *Obesogammarus obesus* (Sars, 1894), *Pontogammarus robustoides* (G. O. Sars, 1894) и 2 вида мизид – *Limnomysis benedeni* Czerniavsky, 1882 и *Paramysis lacustris* (Czerniavsky, 1882).

Видовое разнообразие чужеродных видов макрозообентоса на створах изученных рек последовательно уменьшалось в направлении с юга (11 видов в р. Днепр, д. Нижние Жары) на север (1 вид в р. Днепр, г. Могилев), что, очевидно, указывает на общее направление распространения

понтно-каспийской фауны в водотоках Беларуси. Следует отметить, что в р. Днепр в окрестностях г. Орша чужеродные виды нами не обнаружены. Сходную тенденцию имели и изменения показателя относительной численности этих гидробионтов на изученных створах за период с 2016 по 2019 г.

Следует отметить, что в 2016 г. были выявлены новые места обитания чужеродного вида мизиды *Paramysis lacustris* (Czerniavsky, 1882). Данный вид проявляет эвригалинные свойства, но редок в солоноватоводных водоемах. В пресноводных водоемах отдает предпочтение заводям с водной растительностью, обитает на всех типах грунтов. Данный вид был вселен в 1960–1961 гг. в Каунасское водохранилище (Литва), расположенное на р. Неман, для улучшения кормовой базы рыб [10]. В дальнейшем он активно распространился по рекам и озерам Литвы. На территории Беларуси *P. lacustris* был обнаружен впервые в 2006 г. в оз. Дрисвяты, которое являлось водоемом-охладителем Игналинской атомной станции. В р. Неман данный вид был обнаружен только в 2008 г. (по неопубликованным данным В. В. Вежновца) и периодически встречался в водотоке в окрестностях д. Гожа и г. Гродно. Мизида *P. lacustris* впервые была обнаружена в р. Днепр в окрестностях д. Нижние Жары в сборах 2006–2008 гг. [11], а в 2016 г. – в прибрежной зоне р. Днепр в окрестностях городов Лоев и Речица. Численность данного вида мизиды в р. Днепр (створ ниже г. Речица) составляла 16 экз/м². *P. lacustris* встречается и в украинской части р. Днепр: в дельте р. Днепр, Каховском, Запорожском, Днепродзержинском и Кременчугском водохранилищах. Следует отметить, что Киевское водохранилище является основным донором понтно-каспийских видов для рек Черноморского бассейна Беларуси.

Заключение. Река Днепр с притоками является частью Центрального Европейского инвазивного коридора и выполняет ключевую роль в продвижении ряда видов понтно-каспийской фауны в речные экосистемы Центральной и Западной Европы из близко расположенного водоема-донора чужеродных видов Киевского водохранилища. Изменение климата, интенсификация хозяйственной деятельности человека приводит к эвтрофированию и повышению минерализации воды, что способствует ухудшению условий обитания аборигенных бентосных сообществ. Это приводит к уменьшению конкуренции и дальнейшему распространению ряда уже обосновавшихся чужеродных видов, а также к появлению новых инвазий в водотоках Беларуси. Скорее всего, этот процесс будет только ускоряться, что потребует дополнительных усилий в области мониторинга водотоков бассейна р. Днепр для принятия своевременных решений по контролю распространения и регулированию численности чужеродных видов.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность научным сотрудникам НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам В. В. Вежновцу и А. И. Макаренко за оказанную помощь в сборе полевого материала. Исследования были выполнены в рамках бюджетной темы № 24 задания 2.05 ГПНИ «Природопользование и экология».

Acknowledgements. Authors thank to V.V. Vezhnovets and A. I. Makarenko (researches of the Scientific and Practical Center for Bioresources) for their assistance in field collection of samples. This study was conducted in the frame of Topic 24, Task 2.05 of the Government Program “Nature Management and Ecology”, Chapter “Biodiversity, bioresources, ecology”.

Список использованных источников

1. Блакітная кніга Беларусі (Водныя аб’екты Беларусі) / пад рэд. Н. А. Дзісько [і інш.]. – Мінск : Беларус. энцыкл., 1994. – 414 с.
2. Природа Белоруссии : популяр. энцикл. / редкол. : И. П. Шамякин (гл. ред.) [и др.]. – Минск : БелСЭ, 1986. – 597 с.
3. Баканов, А. И. Использование характеристик разнообразия зообентоса для мониторинга состояния пресноводных экосистем / А. И. Баканов // Мониторинг биоразнообразия / отв. ред. : В. Е. Соколов, Ю. С. Решетников, М. И. Шатуновский. – М., 1997. – С. 278–282.
4. Липинская, Т. П. Экологическое состояние рек разного порядка по структурно-функциональным показателям сообщества макрозообентоса (на примере бассейна р. Днепр) / Т. П. Липинская // Природ. ресурсы. – 2011. – № 2. – С. 33–36.
5. Красная книга Республики Беларусь. Животные: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных / И. М. Кочановский [и др.]. – 4-е изд. – Минск : Беларус. энцыкл., 2015. – 320 с.
6. Ленко, Т. М. Перловица толстая *Unio crassus* Philipsson, 1788 / Т. М. Ленко // Красная книга Республики Беларусь. Животные / И. М. Кочановский [и др.]. – 4-е изд. – Минск, 2015. – С. 263–264.

7. Мороз, М. Д. Каталог поденок (Ephemeroptera), веснянок (Plecoptera) и ручейников (Trichoptera) Беларуси / М. Д. Мороз, Т. П. Липинская – Минск : Беларус. навука, 2014. – 312 с.
8. Наумова, Л. А. Зообентос руслового участка р. Припять / Л. А. Наумова // Докл. Акад. наук Укр. ССР. Сер. Б. Геологические, химические и биологические науки. – 1984. – Т. 6. – С. 63–66.
9. Kłonowska-Olejnik, M. Ephemeroptera Jętki / M. Kłonowska-Olejnik // Czerwona lista zwierząt ginących i zagrożonych w Polsce / red. Z. Głowaciński. – Kraków, 2002. – S. 128–132.
10. Arbačiauskas, K. The distribution and local dispersal of Ponto-Kaspian peracarida in Lithuanian fresh water with notes on Pontogammarus robustoides population establishment, abundance and impact / K. Arbačiauskas // Oceanol. Hydrobiol. Studies. – 2005. – Vol. 34, N 1. – P. 93–111.
11. Checklist of aquatic alien species established in large river basins of Belarus / V. Semenchenko [et al.] // Aquatic Invasions. – 2009. – Vol. 4, N 2. – P. 337–347. <https://doi.org/10.3391/ai.2009.4.2.5>

References

1. Dzis'ko N. A., Kurlovich M. M., Malashevich Ya. V., Samuel' S. P., Sachanka B. I., Khauratovich I. P., Yakushka V. P. (eds.). *Blue Book of Belarus (Water bodies of Belarus)*. Minsk, Belaruskaya Entsyklopedyya Publ., 1994. 414 p. (in Belarusian).
2. *Nature of Belarus: popular encyclopedia*. Ed. I. P. Shamyakin. Minsk, Belorusskaya Sovetskaya Entsiklopediya Publ., 1986. 597 p. (in Russian).
3. Bakanov A. I. Zoobenthos diversity characteristics as used to monitor the condition of fresh-water ecosystems. *Monitoring bioraznობრaziya [Monitoring of biodiversity]*. Moscow, 1997, pp. 278–282 (in Russian).
4. Lipinskaya T. Ecological status of different order rivers according to the structural and functional indices of macrozoobenthic communities (case study Dnieper River basin). *Prirodnye resursy [Natural resources]*, 2011, no. 2, pp. 33–36 (in Russian).
5. Kachanovskii I. M., Nikiforov M. E., Parfenov V. I., Borodin O. I., Pugachevskii A. V., Baichorov V. M., Gapienko O. S., Giryaev A. S., Evdaseva T. P., Dobritskaya E. A., Lemekhova D. D., Orsich O. I. *The Red Book of the Republic of Belarus. Animals: rare and endangered species of wild animals*. Minsk, Belaruskaya Entsyklopedyya Publ., 2015. 320 p. (in Russian).
6. Lenko T. M. Perlovica thick *Unio crassus* Philipsson, 1788. *Red Book of the Republic of Belarus. Animals*. Minsk, 2015, pp. 263–264 (in Russian).
7. Moroz M. D., Lipinskaya T. P. *Catalogue of Mayflies (Ephemeroptera), Stoneflies (Plecoptera) and caddisflies (Trichoptera) of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 312 p. (in Russian).
8. Naumova L. A. Zoobenthos of the channel section of Pripyat River. *Doklady Akademii nauk Ukrainskoi SSR. Seriya B. Geologicheskie, khimicheskie i biologicheskie nauki [Reports of the Academy of Sciences of the Ukrainian SSR. Series B. Geological, chemical and biological sciences]*, 1984, vol. 6, pp. 63–66 (in Russian).
9. Kłonowska-Olejnik M. Ephemeroptera Jętki. *Czerwona lista zwierząt ginących i zagrożonych w Polsce*. Kraków, 2002, s. 128–132.
10. Arbačiauskas K. The distribution and local dispersal of Ponto-Kaspian peracarida in Lithuanian fresh water with notes on Pontogammarus robustoides population establishment, abundance and impact. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 2005, vol. 34, no. 1, pp. 93–111.
11. Semenchenko V., Rizevsky V., Mastitsky S., Vezhnovets V., Pluta M., Razlutsky V., Laenko T. Checklist of aquatic alien species established in large river basins of Belarus. *Aquatic Invasions*, 2009, vol. 4, no. 2, pp. 337–347. <https://doi.org/10.3391/ai.2009.4.2.5>

Информация об авторах

Липинская Татьяна Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tatsiana.lipinskaya@gmail.com

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

Information about the authors

Tatsiana P. Lipinskaya – 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: tatsiana.lipinskaya@gmail.com

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 546.26; 581.1; 633.16

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-74-87>

Поступила в редакцию 24.06.2020

Received 24.06.2020

О. В. Молчан, Е. С. Зубей

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

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНА НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В ГИДРОПОННОЙ КУЛЬТУРЕ

Аннотация. Изучены различия в ответной реакции на действие фуллера растений ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт Якуб), выращенных в гидропонной культуре (в дистиллированной воде и в питательном растворе Кнопа) с добавлением фуллера C_{60} (10 или 50 мг/л). В течение вегетации в первом листе оценивали содержание хлорофилла, флавонолов и индекс азотного баланса (NBI). В конце эксперимента определяли относительную скорость потери воды (ОПВ) листьями, а также сухую массу корней и листьев.

Влияние фуллера на физиолого-биохимические показатели растений ячменя зависело от концентрации данных наночастиц и наличия питательных элементов в среде культивирования. При добавлении 10 мг/л фуллера все исследованные параметры были, как правило, на уровне контрольных значений. В то же время экспозиция с 50 мг/л фуллера стимулировала снижение содержания хлорофилла и флавонолов в первом листе, увеличивала ОПВ листьями и замедляла рост растений ячменя, выращиваемых в воде. При внесении 50 мг/л фуллера в раствор Кнопа содержание хлорофилла в первом листе возрастало, накопление флавонолов практически не менялось, более длительным было повышение NBI. При этом увеличивалась сухая масса листьев, а достоверных изменений ОПВ листьями и роста корня отмечено не было. Предполагается, что различия в чувствительности растений к фуллерену при их выращивании в воде и в питательном растворе Кнопа связаны, с одной стороны, с их анатомо-морфологическими и физиолого-биохимическими особенностями, включая активность механизмов детоксикации, с другой – с возможными изменением физико-химических свойств наночастиц в растворе солей, активацией доставки питательных элементов с помощью фуллера и влиянием на процессы, обуславливающие замедление старения первого листа.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare* L., фуллерен, питательный раствор Кнопа, хлорофилл, флавонолы, NBI, относительная потеря воды, сухая масса

Для цитирования: Молчан, О. В. Влияние фуллера на физиолого-биохимические параметры растений ячменя в гидропонной культуре / О. В. Молчан, Е. С. Зубей // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 74–87. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-74-87>

Olga V. Molchan, Ekaterina S. Zubei

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

THE EFFECT OF FULLERENE ON THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BARLEY PLANTS IN HYDROPONIC CULTURE

Abstract. The differences in the response to the action of fullerene of barley plants (*Hordeum vulgare* L., cultivar Yakub) grown in water culture (in distilled water or Knop's nutrient solution) with the addition of fullerene C_{60} (10 or 50 mg/l) were studied. The content of chlorophyll, flavonols, and nitrogen balance index (NBI) were evaluated in the 1st leaf during the growing. At the end of the experiment, the relative rate of water loss (RWL) by the leaves was determined, as well as the dry mass of the roots and shoots.

The effect of fullerene on the physiological and biochemical parameters of barley plants depended on the concentration of these nanoparticles and the presence of nutrients in the cultivation medium. Under the action of 10 mg/l of fullerene, all investigated parameters were mainly maintained at the level of control values. At the same time, exposure to 50 mg/l of fullerene stimulated a decrease in the content of chlorophyll and flavonols in the first leaf, increased the relative loss of water by the leaves, and slowed down the growth of barley plants grown in water. When 50 mg/l of fullerene was added to the Knop solution, the chlorophyll content in the first leaf increased, the accumulation of flavonols practically did not change, and the NBI increase was more prolonged. In this case, the dry mass of shoots increased, and no significant changes in the relative loss of water by the leaves and root growth were noted. It is assumed that differences in the sensitivity of plants to fullerene during their growth in water and Knop's nutrient solution are associated, on the one hand, with their anatomical, morphological, and physiological and biochemical characteristics, including the activity of detoxification mechanisms, and, on the other, with possible changes in physicochemical properties nanoparticles in a solution of salts, activation of the delivery of nutrients with the help of fullerene and the influence on the processes that cause the aging of the first leaf to slow down.

Keywords: *Hordeum vulgare* L., fullerene, Knop's nutrient solution, chlorophyll, flavonols, NBI, relative loss of water, dry weight

For citation: Molchan O. V., Zubei E. S. The effect of fullerene on the physiological and biochemical parameters of barley plants in hydroponic culture. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 74–87 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-74-87>

Введение. Углеродные наноматериалы (графен, нанотрубки, фуллерены) являются сегодня весьма востребованными и широко используются в различных областях – медицине, экологии и биотехнологии и др. Свойства наноматериалов вызывают все больший интерес, но при этом биологическая активность и механизмы их действия на живые организмы, особенно на растения, изучены явно недостаточно. В основном проводится оценка их терапевтической активности и цитотоксичности по отношению к клеткам животных и микроорганизмов. В то же время очевидно, что структурные и физиологические особенности растений (наличие полисахаридной клеточной стенки, вакуолей, корневой системы, фотосинтеза, минерального питания, водного обмена) будут обуславливать специфическое взаимодействие с наночастицами и наноконструкциями [1].

Фуллерены – сферические молекулы с симметрично расположенными атомами углерода. Наиболее распространенным является фуллерен C_{60} . Биоактивные свойства фуллеренов, их форм и производных являются предметом интенсивных исследований в последнее десятилетие. Их форма, а также функциональный потенциал, в том числе возможность иммобилизации различных биоактивных молекул и способность взаимодействовать со свободными радикалами, позволяют отнести фуллерены к перспективным наноразмерным носителям лекарственных средств, с помощью которых можно снижать токсические эффекты препаратов при химиотерапии, сорбировать органические поллютанты, такие, например, как инсектицид линдан и стойкие полихлорированные бифенилы [1–4]. Также показано, что фуллерены могут иммобилизовать в почве и гидропонных растворах остатки пестицидов [5, 6]. С другой стороны, обнаружено увеличение накопления поллютантов в растениях в присутствии фуллеренов, зависящее от вида растения, свойств субстрата и концентрации наночастиц [3, 4]. Значительные преимущества углеродных наночастиц для использования в качестве сорбентов обеспечивают их большая площадь поверхности, механическая и термическая стабильность и потенциальные антибактериальные свойства.

Опубликованные к настоящему времени результаты исследований влияния фуллеренов, их форм и производных на растительный организм не только малочисленны, но и противоречивы. Ряд исследователей отмечают негативное влияние фуллерена C_{60} (ингибирование фотосинтеза и поглощение магния у фитопланктона, ингибирование роста и накопления хлорофилла у ряски, редукция прироста биомассы проростков кукурузы и сои) [5, 7, 8]. С другой стороны, установлено, что фуллерены не влияют на прорастание семян пшеницы, риса, огурца, предположительно из-за непроницаемости кожуры семени [9]. В то же время фуллеролы, водорастворимые функционализированные ОН-фуллерены, часто оказывают положительные эффекты на рост растений: показаны стимуляция клеточных делений в культурах зеленых водорослей *Pseudokirchneriella subcapitata* и роста гипокотыля *A. thaliana*, увеличение количества и размера плодов *Momordica charantia*, повышение содержания биоактивных соединений кукурбитацина, ликопина и инулина [1–4, 10]. Точный механизм регуляции роста растений под действием фуллеренов и их производных не ясен, но предполагается, что он может быть обусловлен в том числе и их про- или антиоксидантными свойствами либо имитацией ферментативной активности [11].

Таким образом, уникальные физико-химические свойства фуллеренов и их функционализированных производных позволяют широко использовать данные наночастицы в биотехнологии и сельском хозяйстве. Очевидно, что внедрение этих разработок сдерживается недостатком базовых знаний о механизмах взаимодействия наночастиц с растениями. Неизученными остаются как эффекты их влияния на физиологические и биохимические процессы в растениях, так и особенности их поступления, накопления, транспорта и выхода из растительного организма. В целом ряде исследований отмечается противоречивость данных о влиянии фуллеренов и их производных на растительный организм. При этом характер эффектов наночастиц определяется, возможно, не только их физической природой, размерами, структурой и концентрацией, но и условиями

произрастания и физиологического состояния растения – объекта исследования. Зависимость эффектов наночастиц от условий выращивания и, таким образом, от физиологического состояния растений, скорее всего, обусловлена различиями в соотношении уровня гормонов, содержания пигментов, скорости фотосинтеза и дыхания, эффективности водообмена, дифференциальной активности генома. От активности физиологических процессов зависят и особенности адаптивных реакций растений на внешние сигналы, в том числе на наночастицы. Таким образом, исследования влияния фуллерена на физиолого-биохимические процессы растений при их выращивании в различных условиях в настоящее время весьма актуальны.

Цель данной работы – изучить особенности влияния фуллерена C_{60} в различных концентрациях на физиолого-биохимические параметры растений ячменя в течение 14 дней культивирования в воде и в питательном растворе Кнопа.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись растения ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Якуб. Семена проращивали согласно ГОСТу [12]. В возрасте 3 сут (фаза прорастания семян) проростки переносили в специальные пластиковые контейнеры, содержащие дистиллированную воду или питательный раствор Кнопа. Далее проростки выращивали в водной культуре с периодической аэрацией корнеобитаемой среды при люминесцентном освещении (плотность потока фотонов $100 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, фотопериод 16 ч) и температуре $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Фуллерен C_{60} (10 или 50 мг/л) производства НПК «Нео-ТекПродакт» (г. Санкт-Петербург) добавляли в среду культивирования непосредственно перед высадкой проростков.

В течение вегетации на 5, 7, 11 и 14-е сутки после переноса в среду культивирования (всходы, появление третьего листа) оценивали содержание хлорофилла, флавонолов и индекса азотного баланса (NBI) в первом листе с помощью неинвазивного оптического сенсора Dualex (FORCE-A, Orsay, Франция) [13]. В конце опыта определяли относительную скорость потери воды (ОПВ) изолированными листьями согласно [14], а также сухую массу корней и побегов 17-дневных растений.

Использовали не менее 30 растений для каждого варианта эксперимента в трех биологических повторностях. Для обработки полученных результатов применяли стандартные методы вариационной статистики. Данные приведены как среднее арифметическое (\bar{x}) \pm ошибка средней величины ($S_{\bar{x}}$) [15]. Различия средних показателей считали достоверными при $p < 0,05$ [15].

Результаты и их обсуждение. Важность обеспечения оптимального развития растения на ранних стадиях, особенно в фазе всходов, когда повышена чувствительность к факторам окружающей среды, сегодня хорошо известна. Под воздействием стрессоров может происходить значительное замедление роста и развития растений, обусловленное в том числе снижением роста и фотосинтетической активности первого листа. При этом от эффективности его функционирования во многом зависит не только развитие надземной части растения, но и формирование корневой системы, что особенно важно на этапе фазы всходов, когда повышенной является чувствительность к засухе. Кроме того, первый лист растений злаковых культур часто используют как удобную модель для изучения изменений, происходящих в процессе роста, развития и старения листа.

В связи с изложенным выше одной из задач данного исследования была оценка влияния фуллерена на физиолого-биохимические параметры первого листа растений в течение 5–14 сут (фаза всходов) их культивирования в воде (контроль) и в питательном растворе Кнопа (рис. 1–3). Поскольку физиологическое состояние первого листа проростков напрямую связано с активностью структурных компонентов фотосинтетического аппарата, прежде всего было изучено изменение содержания хлорофилла под действием фуллерена (см. рис. 1).

Обнаружение возрастных изменений в содержании фотосинтетических пигментов первого листа в течение 14 сут культивирования растений было ожидаемым. Известно, что максимальные скорости фотосинтеза в первом листе проростка ячменя сохраняются в течение очень короткого временного интервала. В листьях, достигших предельных размеров, начинаются процессы старения, снижается интенсивность фотосинтеза и дыхания, деградируют хлоропласты и т. д. В то же время, как видно на рис. 1, добавление 10 мг/л фуллерена при выращивании проростков в воде (контроль) усиливало снижение содержания хлорофилла в первом листе только к 14-м суткам. Добавление 50 мг/л фуллерена приводило к значимому снижению содержания хлорофилла от-

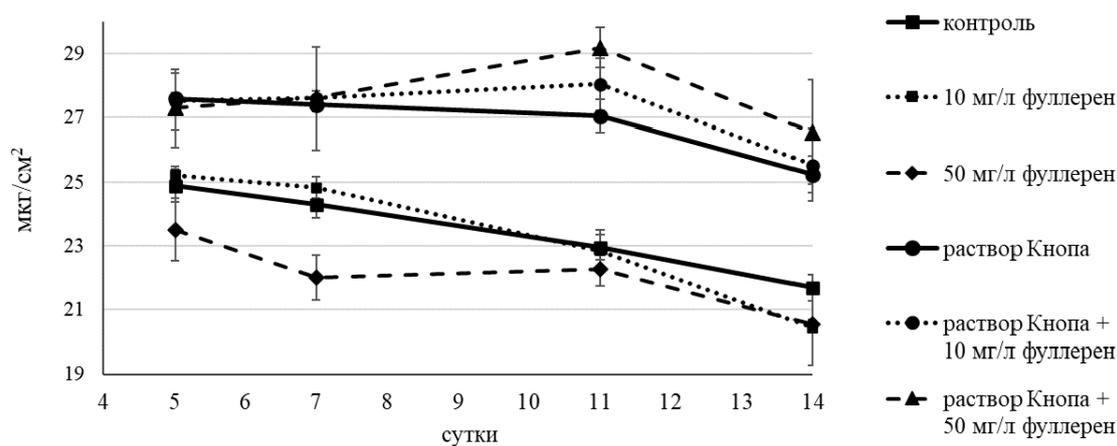


Рис. 1. Влияние фуллерена на содержание хлорофилла в первом листе растений ячменя при выращивании в воде (контроль) и в питательном растворе Кнопа в течение 5–14 сут

Fig. 1. The effect of fullerene on the chlorophyll content in the first leaf of barley plants when grown in water (control) and in Knop's nutrient solution for 5–14 days

носителю контроля уже после 5 сут культивирования. Через 11 сут культивирования растений в воде в присутствии фуллеренов содержание хлорофилла в листьях ячменя было снижено относительно контрольного значения, однако различия были недостоверными.

Внесение питательных элементов (раствор Кнопа) приводило к существенному повышению содержания хлорофилла в первом листе проростков и способствовало задержке его деградации по сравнению с контролем (рис. 1). Тем не менее, и в присутствии фуллерена, и без его добавления в среду культивирования к 14-м суткам выявлено снижение уровня фотосинтетических пигментов, что, вероятно, связано как с процессами старения, так и с быстро возрастающей активностью второго листа. При этом важно отметить, что добавление 50 мг/л фуллерена в питательную среду Кнопа не только не приводило к снижению содержания хлорофилла, а, напротив, к 11-м суткам повышало его. В течение первых 7 сут экспозиции растений на растворе Кнопа (5- и 7-дневные проростки) в присутствии фуллерена эффектов наночастиц не выявлено. Не отмечалось также и достоверных изменений содержания пигментов под влиянием 10 мг/л фуллерена. Возможно, что для проявления эффекта необходимо накопление наночастиц до определенного уровня.

Для выяснения механизмов, которые приводят к увеличению содержания хлорофилла в присутствии фуллерена в питательном растворе Кнопа, требуется проведение специальных исследований. Одним из возможных вариантов может быть генерация дополнительного фотоэлектрохимического потока электронов к реакционным центрам фотосистем. Например, к настоящему времени получены результаты, которые показывают, что углеродные нанотрубки могут оптимизировать преобразование световой энергии в хлоропластах шпината *in vivo* и *ex vivo* [16, 17]. Наночастицы поглощают свет в широком диапазоне длин волн в области УФ, видимого и ближнего ИК-излучения, а, будучи встроенными в хлоропласты, они, возможно, могут усиливать световые реакции фотосинтеза. Кроме того, известна способность ряда наночастиц, в том числе фуллеренов, регулировать содержание активных форм кислорода в клетках растений, влияя таким образом на эффективность и стабильность работы фотосинтетического аппарата [18–20].

Изменение содержания хлорофилла и активности фотосинтетического аппарата в процессе роста и развития первого листа сопровождается изменением состояния антиоксидантных систем, в том числе содержания фенольных соединений. Поэтому нами был также проведен анализ влияния фуллерена на уровень флавонолов в эпидермисе первого листа проростков ячменя (рис. 2).

Как и следовало ожидать, содержание флавонолов в клетках эпидермиса первого листа проростков было почти в 1,5 раза выше при их выращивании в воде, чем в растворе Кнопа. Фуллерен

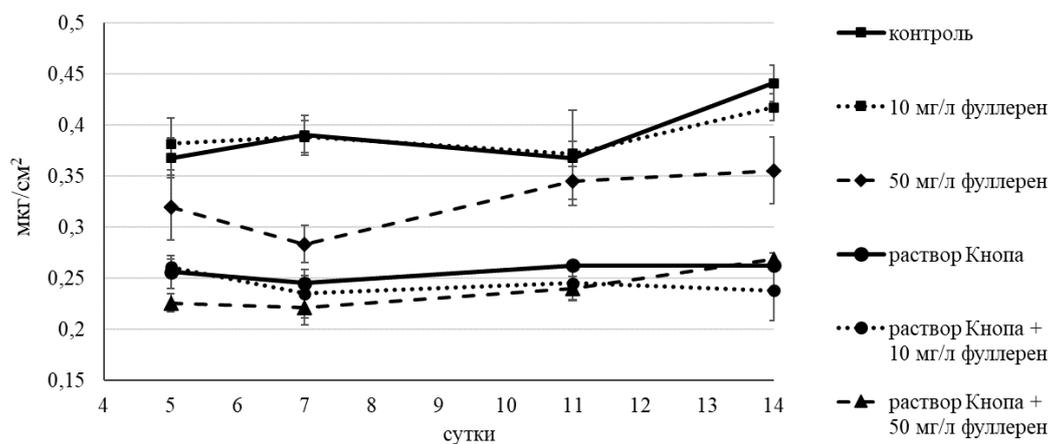


Рис. 2. Влияние фуллерена на содержание флавонолов в эпидермисе первого листа растений ячменя при выращивании в воде (контроль) и в питательном растворе Кнопа в течение 5–14 сут

Fig. 2. The effect of fullerene on the flavonol content in the epidermis of the first leaf of barley plants when grown in water (control) and in Knop's nutrient solution for 5–14 days

в концентрации 10 мг/л не оказывал влияния на содержание флавонолов вне зависимости от наличия в среде питательных элементов (рис. 2).

В то же время добавление 50 мг/л фуллерена снижало накопление флавонолов, особенно у растений, выращенных в воде. К 14-м суткам отмечено дополнительное увеличение количества данных фенольных соединений, вероятно связанное с повышением уровня АФК в процессе старения листа растений, выращиваемых в воде. При культивировании растений в растворе Кнопа достоверного влияния фуллерена на накопление флавонолов в эпидермисе первого листа не обнаружено, хотя средние значения были ниже контрольных (рис. 2).

Следует отметить, что содержание фенольных соединений, в том числе флавонолов, в процессе роста и развития проростка за короткое время меняется кардинально. С одной стороны, это связано с активацией в фазе прорастания метаболических процессов [21–23], с другой – с тем, что изменяется уровень накопления фенольных соединений как мощных антиоксидантов в процессе старения листа [23]. Поэтому влияние фуллерена на накопление флавонолов в эпидермисе первого листа на фоне значительных модификаций их метаболизма, обусловленных процессами роста и развития, может быть не столь выраженным. В то же время ранее нами также было показано снижение содержания суммы фенольных соединений в проростках ячменя под действием фуллеренола, гидроксильированного производного фуллерена [24]. Можно предположить, что снижение содержания фенольных соединений в тканях проростков ячменя под действием фуллерена и его водорастворимых производных обусловлено их собственной антиоксидантной активностью.

Следующим проанализированным параметром был NBI, который отражает обеспеченность растения азотом [13]. Как видно на рис. 3, добавление элементов питания в среднем в 1,5 раза повышает NBI первого листа проростка, хотя и не предотвращает его снижение к 14-м суткам. Так, с 5-х по 14-е сутки индекс снижается в среднем на 20 отн. ед. при выращивании в воде и на 10 отн. ед. при выращивании в питательном растворе Кнопа.

Под действием фуллерена в концентрации 10 мг/л достоверных отличий от контроля не отмечено. Однако обращает на себя внимание увеличение NBI под влиянием 50 мг/л фуллерена в листьях проростков, выращенных как в воде (5- и 7-дневные растения), так и в питательном растворе Кнопа (5-, 7- и 11-дневные растения) по сравнению с соответствующими контролями. Причем у проростков, выращенных в растворе Кнопа, увеличение индекса было более длительным и выраженным (в среднем 20 отн. ед.).

Таким образом, эффект влияния фуллерена на содержание хлорофилла, флавонолов и NBI первого листа проростков ячменя проявлялся только при концентрации наночастиц 50 мг/л. Кроме того, результаты экспериментов показали различия в ответной реакции растений, культи-

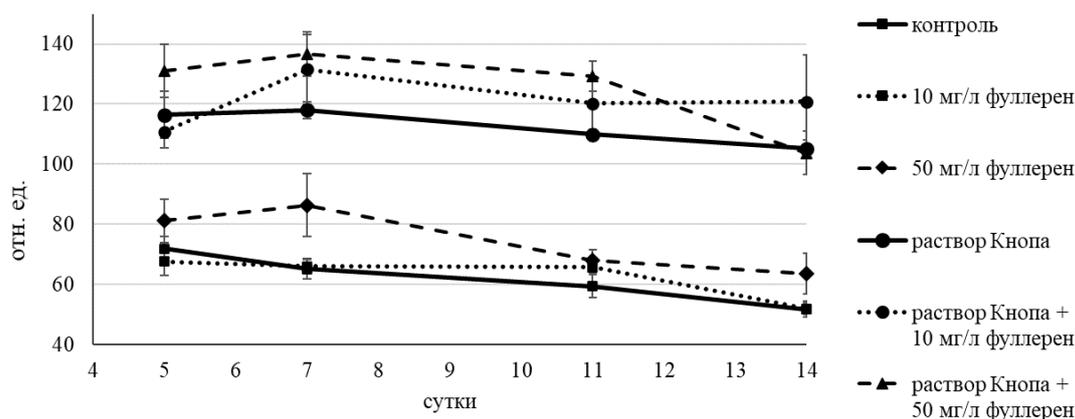


Рис. 3. Влияние фуллерена на индекс азотного баланса первого листа растений ячменя при выращивании в воде (контроль) и в питательном растворе Кнопа в течение 5–14 сут

Fig. 3. The effect of fullerene on the nitrogen balance index of the first leaf of barley plants when grown in water (control) or in Knop's nutrient solution for 5–14 days

вируемых в воде и в растворе Кнопа, на действие фуллерена. Возможно, присутствие питательных элементов в среде не только ускоряет ростовые процессы, но и делает растение более устойчивым к воздействию наночастиц. Сходные данные были получены ранее и некоторыми другими авторами. Например, было показано, что по большинству изученных показателей роста и параметров фотосинтетической активности развитые 7-дневные растения ячменя более устойчивы к присутствию в среде кадмия, чем 3-дневные [25]. Также следует отметить, что внесение 50 мг/л фуллерена в раствор Кнопа приводило к замедлению процессов старения первого листа растений ячменя. Полученные результаты в целом согласуются с ранее установленными закономерностями. Так, показано [26], что внесение азота уже на 2–4-е сутки культивирования проростков ячменя приводит к стимуляции как фотосинтетической активности, так и скорости ростовых процессов. Авторы отмечают, что раннее поступление внешнего азота может быть важным для контроля роста и фотосинтетической активности первого листа. При этом к 14-м суткам исследователи отмечают снижение фотосинтетической активности первого листа как при добавлении азота, так и без него, поскольку эти процессы генетически детерминированы.

Особый интерес представляла оценка влияния фуллерена на физиологическое состояние проростка в целом, особенно на параметры водного обмена и накопление биомассы. Недостаток воды в начале вегетативного развития злаковых культур – наиболее существенный фактор, лимитирующий рост, а на последующих стадиях – и урожай. Поэтому представлялось важным оценить один из ключевых параметров водного обмена растений ячменя – относительную скорость потери воды изолированными листьями (рис. 4).

Как видно на рис. 4, повышение ОПВ под действием фуллерена при выращивании в воде было достаточно выраженным, а у растений, растущих в растворе Кнопа в присутствии 10 и 50 мг/л фуллерена, этот параметр достоверно не изменялся. В то же время при выращивании растений в питательном растворе Кнопа ОПВ достоверно не отличалась от контроля, хотя среднее значение параметра было несколько ниже. Также следует отметить, что если достоверных различий между ОПВ контрольных вариантов (вода и раствор Кнопа) не обнаруживалось, то при сравнении проростков, выращенных при экспозиции с фуллереном, у растений на растворе Кнопа данный параметр был значительно ниже, чем у выращенных в воде. Повышение скорости водоотдачи листьями может быть связано с изменением активности аквапоринов плазматической мембраны.

Данных об изменении параметров водного обмена в растениях под действием углеродных наночастиц в литературе к настоящему времени очень мало. Например, была показана стимуляция углеродными нанотрубками процессов поглощения воды семенами томата [3, 4]. С другой стороны, было установлено, что фуллерены и нанотрубки могут поглощаться из раствора и нака-

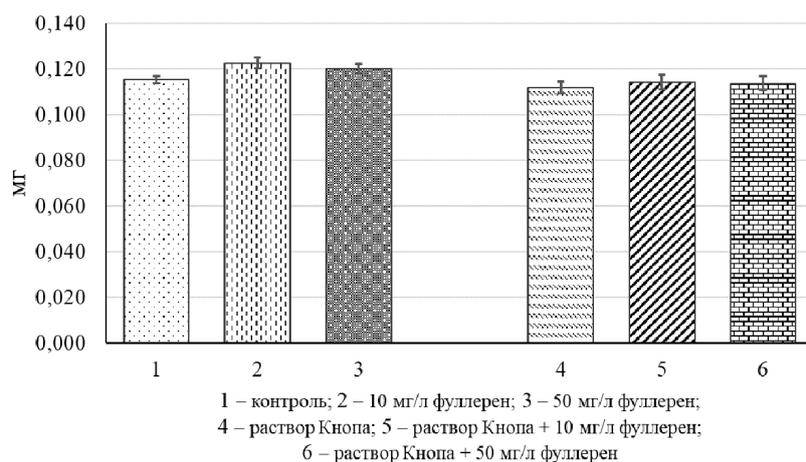


Рис. 4. Влияние фуллерена на относительную потерю воды изолированными листьями 17-дневных растений ячменя при выращивании в воде (контроль) и в питательном растворе Кноп в течение 14 сут

Fig. 4. The effect of fullerene on the relative loss of water by isolated leaves of 17 day old barley plants when grown in water (control) and in Knop's nutrient solution for 14 days

пливаться в семенах и корнях риса, что препятствует поступлению воды и питательных веществ и приводит к замедлению развития растений [3, 4]. Также предполагается, что активность аквапоринов регулируется наночастицами [3, 4]. Однако практически нет информации об изменении параметра ОПВ под действием углеродных наночастиц. ОПВ обычно расценивают как достаточно надежный параметр водного стресса [27, 28]. Этот показатель часто используют при скрининге сортов для определения их засухоустойчивости: засухоустойчивые сорта характеризуются более низкими проницаемостью мембран и относительной потерей воды изолированными листьями. Например, параметр ОПВ был использован для оценки засухоустойчивости сортов пшеницы [29–31]. Таким образом, поскольку ранее многими авторами между ОПВ, проницаемостью мембран и засухоустойчивостью были обнаружены четкие корреляции [32], можно предположить, что экспозиция проростков с фуллереном в воде является стрессом (снижает засухоустойчивость проростков), а в растворе Кнопа – не влияет на скорость потери воды и не является стрессовым фактором. Возможно, наночастицы фуллерена могут изменять проницаемость плазматической мембраны и, таким образом, увеличивать ОПВ, но в присутствии в среде питательных элементов такие изменения менее значимы. Кроме того, снижение ОПВ может быть результатом активной осморегуляции с помощью свободных аминокислот или сахаров. То есть выявленные нами различия в эффектах влияния фуллерена на ОПВ могут быть обусловлены различным физиологическим состоянием (уровнем биосинтеза углеводов и аминокислот и активностью защитных систем) растений, выращиваемых в воде и в растворе Кнопа. В результате более интенсивного фотосинтеза и азотного обмена в первом листе проростков, выращенных в растворе Кнопа в присутствии фуллерена, вырабатывается больше физиологически активных веществ, обуславливающих активацию развития и стрессоустойчивости всего растения. Многие исследователи также связывают пониженный ОПВ и повышенную засухоустойчивость ярового ячменя со способностью последнего интенсивно использовать питательные вещества в ранние фазы роста и скороспелостью.

Изменения коснулись также показателя удельной поверхностной плотности листьев (УППЛ) (рис. 5).

Снижение УППЛ растений ячменя при выращивании в питательном растворе на фоне увеличения площади листьев свидетельствует об изменении структуры последних. Клетки таких листьев крупнее, повышена доля фотосинтетических тканей. Более плотная ткань при выращивании в воде обусловлена меньшим размером клеток, а также увеличением доли нефотосинтетических тканей в листе. Возрастание доли проводящих тканей вследствие сокращения площади листа обычно сопровождается повышением плотности жилкования [33].

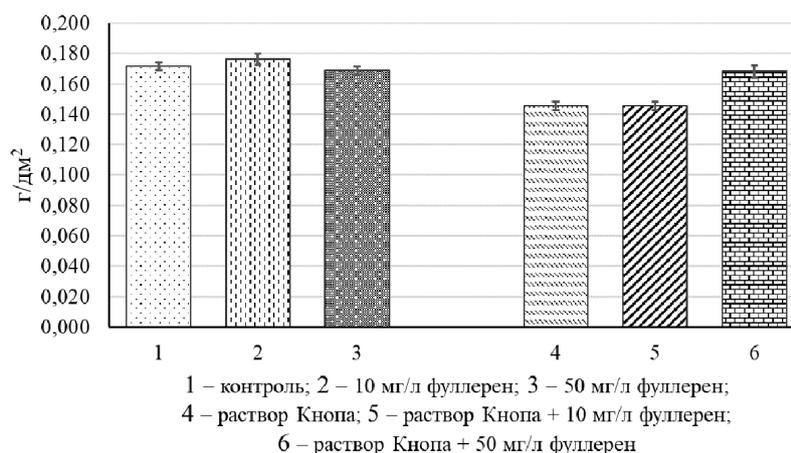


Рис. 5. Влияние фуллерена на параметр удельной поверхностной плотности листьев 17-дневных растений ячменя при выращивании в воде (контроль) и в питательном растворе Кнопа в течение 14 сут

Fig. 5. The effect of fullerene on the leaf mass per area parameter of leaves of 17 day old barley plants when grown in water (control) and in Knop's nutrient solution within 14 days

При добавлении фуллеренов в воду параметр УППЛ практически не изменялся. Однако при выращивании на питательном растворе этот параметр возрастал с повышением в среде концентрации фуллеренов. Так, при воздействии 50 мг/л фуллерена значение УППЛ было идентично таковому у контрольных растений, выращенных в воде. Вероятно, при действии фуллеренов структура ткани изменяется в сторону более ксероморфной, что можно рассматривать как повышение стрессоустойчивости растений. Причем степень воздействия зависит от концентрации наночастиц.

Тот факт, что изменения УППЛ и ОПВ при выращивании в воде и в растворе Кнопа носят разнонаправленный характер, может свидетельствовать в пользу того, что фуллерен влияет на водный обмен в листьях, в том числе на активность аквапоринов.

В данной работе нами также было изучено влияние фуллерена на накопление сухой массы побега и корневой системы растений ячменя (рис. 6).

Внесение питательных элементов в корнеобитаемую среду способствовало увеличению сухой массы и побега, и корневой системы: при выращивании в растворе Кнопа сухая масса 14-дневных растений была в среднем в 1,5–2 раза выше (рис. 6).

Питательные вещества стимулировали также развитие проростков: второй и третий листья ячменя появились раньше и имели большую площадь (данные не приводятся). Таким образом, растения ячменя, выращенные в воде и в растворе Кнопа, несмотря на одинаковый календарный возраст, находились в разном физиологическом состоянии. В то же время было отмечено, что действие фуллерена на растения ячменя, выращенные в воде, в наибольшей степени тормозит рост побегов.

Образование сухого вещества в листьях растений ячменя, выращенных в воде под действием фуллерена (10 и 50 мг/л), было снижено, тогда как сухая масса корня достоверно не менялась (см. рис. 5). При внесении же 10 мг/л фуллерена в корнеобитаемую среду, содержащую питательные вещества, заметных различий в сухой массе надземной части между опытными и контрольными растениями не отмечено, хотя средние значения уменьшались. Сухая масса побегов 17-дневных растений, выращиваемых в растворе Кнопа в присутствии 50 мг/л фуллерена в течение 14 сут, была максимальной среди всех исследованных вариантов. При этом не наблюдалось достоверных изменений сухой массы корня ни при одной из обработок фуллереном, хотя корневая система находилась в непосредственном контакте с наночастицами. То есть под действием 50 мг/л фуллерена сухой вес листьев растений, выращенных в растворе Кнопа, увеличивался при соблюдении нормального роста корня.

О возможности использования углеродных наноматериалов для повышения продуктивности культур, регуляции их роста и развития свидетельствуют многие данные, опубликованные в ря-

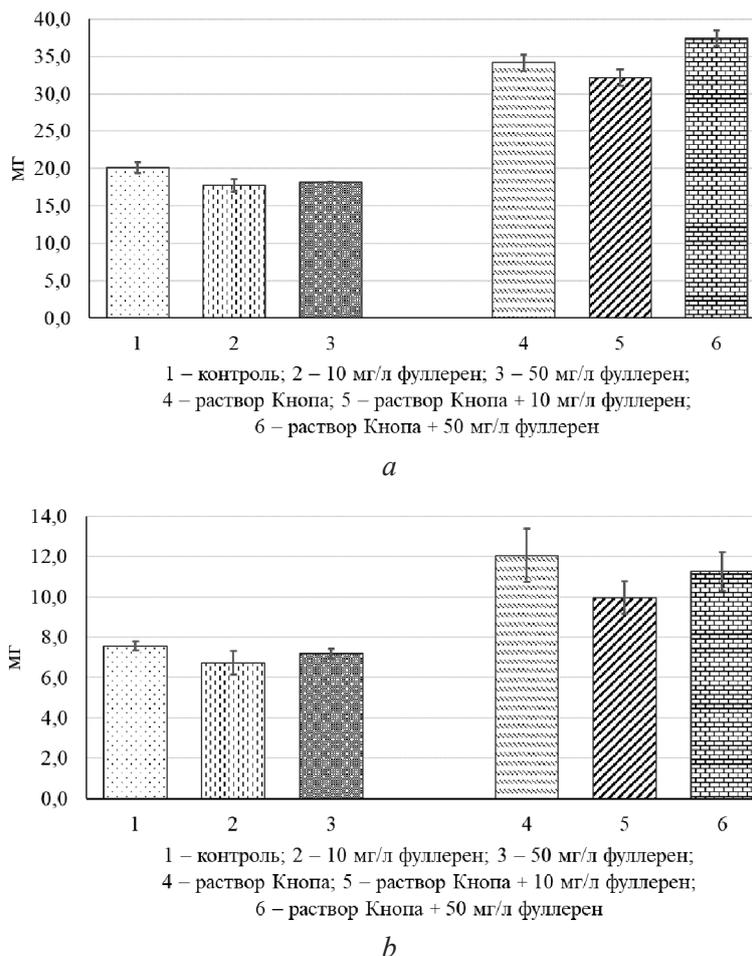


Рис. 6. Влияние фуллерена на сухую массу побега (а) и корневой системы (b) 17-дневных растений ячменя при их выращивании в воде (контроль) и в питательном растворе Кнопа в течение 14 сут

Fig. 6. The effect of fullerene on the dry mass of the shoot (a) and root (b) of 17-day old barley plants when they are grown in water (control) or in Knop's nutrient solution within 14 days

де работ [1–4]. При этом, как указывалось выше, результаты исследований, проведенных различными авторскими коллективами, неоднозначны. Отмечались как стимуляция, так и ингибирование роста при обработке растений нанопрепаратами [1–4]. Например, показана стимуляция углеродными нанотрубками всхожести и роста сои, кукурузы и ячменя в агаризованной среде, скорости прорастания и роста *Brassica juncea*, накопления биомассы и цветения растений [34, 35]. Р. Miralles с соавт. [36] исследовали эффект модифицированных Fe_3O_4 -наночастицами углеродных нанотрубок в концентрации $2560 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ на прорастание семян люцерны и пшеницы. В результате было показано, что углеродные нанотрубки поглощаются только на поверхности корневой системы проростков, вызывая ее элонгацию. Исследование влияния углеродных нанотрубок на рост корня 6 видов растений показало: для лука и огурца – стимуляцию, для салата-латука и томата – ингибирование, для кабачка и моркови – отсутствие влияния на корневую систему [37]. Было обнаружено, что в корень растений нанотрубки не проникают, а в ряде случаев происходит его «обертывание» углеродными наночастицами [37]. Литературных данных о влиянии фуллеренов на рост растений опубликовано гораздо меньше. Однако известно, что одна из водорастворимых форм фуллерена [$\text{C}_{70}(\text{C}(\text{COOH})_2)_{4-8}$] в концентрации $0,005\text{--}0,02 \text{ мг/мл}$ ингибировала рост проростков арабидопсиса [4, 5], а карбоксифуллерены C_{70} – рост клеточной культуры *N. tabacum*, вызывая деформацию клеточной стенки и индуцируя окислительный стресс [4, 5].

Таким образом, суммируя полученные результаты, можно заключить, что физиологический эффект фуллерена C_{60} на растения ячменя определялся не только концентрацией, но в значитель-

ной степени и условиями применения (дистиллированная вода или питательный раствор Кнопа). В концентрации 10 мг/л фуллерен был менее эффективен, чем при 50 мг/л, и не оказывал влияния на большинство исследованных физиолого-биохимических параметров. Присутствие в среде питательных элементов оказывало влияние на чувствительность растений к фуллерену. Экспозиция растений с 50 мг/л фуллерена в воде снижала содержание хлорофилла, флавонолов в первом листе, повышала относительную потерю воды изолированными листьями и ингибировала образование сухой массы. В то же время при добавлении 50 мг/л фуллерена в раствор Кнопа был отмечен прирост массы побегов растений на фоне повышения содержания хлорофилла и величины NBI первого листа и снижения ОПВ листьями. Таким образом, в результате наших экспериментов наблюдалось замедление снижения содержания хлорофилла и интенсивности фотосинтеза у растений в присутствии фуллерена в растворе Кнопа.

Хотя образование биомассы и развитие фотосинтетической системы не полностью синхронизированы, как показали J. E. Dale с соавт. [26], максимальный размер листового аппарата обычно сопровождается достижением максимальных скоростей фотосинтеза. Поэтому можно предположить, что фуллерен стимулирует фотосинтетическую активность проростков. При помещении на среды, содержащие фуллерен, в течение первых 3 сут проростки находились в фазе прорастания семян, на I этапе органогенеза [38], к 5–7-м суткам, достигали фазы всходов (II этап органогенеза), переходя на автотрофное питание [39]. Возможно, в результате активации фуллереном процессов фотосинтеза в первом листе начинают вырабатываться физиологически активные вещества, обуславливающие развитие всего растения. В начале роста листа продукты фотосинтеза используются на формирование его тканей, а после достижения полного размера они постепенно, а затем полностью перемещаются в более молодые листья и генеративные органы. И хотя листья имеют встроенный механизм, который определяет начало снижения фотосинтеза и не зависит от подачи питательных и регуляторных веществ, процессы активации в первом листе под действием фуллерена приводят к интенсификации использования питательных веществ и накоплению биомассы.

Следует отметить, что фуллерен нерастворим в воде, однако присутствие солей в растворе и взаимодействие с ними может повышать гидрофильность наночастиц, способствуя их транспорту и (или) ускорению поглощения питательных веществ в растительном организме. С другой стороны, уникальные химические и физические свойства фуллеренов также потенциально позволяют улучшать и обеспечивать возникновение новых функциональных характеристик фотосинтетического аппарата растений [4]. И наконец, наличие питательных элементов в среде культивирования проростков приводило к интенсификации ростовых процессов и повышению адаптивного потенциала проростков, обусловленных изменениями в соотношении уровня гормонов [40], содержании пигментов [22], скорости фотосинтеза [41] и дыхания [42], регулируемых дифференциальной активностью генома в соответствии с программой развития [39]. С происходящими изменениями напрямую связаны особенности адаптивных реакций растений на внешние сигналы, включая биотические и абиотические стрессоры (низкие температуры [39], дефицит воды [43], радиация [44], тяжелые металлы [25]). Таким образом, можно предположить, что и различия в эффектах фуллерена были обусловлены также физиологическими особенностями формирования устойчивости растений к наночастицам углерода.

Заключение. Таким образом, нами выявлен ряд изменений физиолого-биохимических параметров в результате воздействия фуллерена в концентрациях 10 и 50 мг/л при выращивании проростков ячменя в воде и в питательном растворе Кнопа. При использовании 10 мг/л фуллерена большинство из исследованных показателей оставались на уровне, близком к контролю. В то же время после 7-дневного культивирования проростков в воде в присутствии 50 мг/л фуллерена содержание хлорофилла в первом листе существенно снижалось и оставалось ниже контроля до 14-х суток культивирования. Экспозиция проростков в воде с 50 мг/л фуллерена также приводила к устойчивому снижению флавонолов в течение всего периода культивирования и непродолжительному повышению NBI первого листа по сравнению с контролем. При этом добавление 50 мг/л фуллерена к раствору Кнопа не только не вызывало снижения содержания флавонолов и хлорофилла, но через 11 сут повышало уровень фотосинтетических пигментов в первом листе

и приводило к более длительному (5–11 сут) повышению NBI. Отмеченные различия в ответной реакции первого листа проростков ячменя на действие фуллерена сопровождались определенными изменениями и процессах водного обмена и накопления биомассы. Так, при добавлении в воду фуллерена в обеих из исследованных концентраций повышалась ОПВ листьями и, хотя и незначительно, снижалась сухая масса и надземной части, и корня проростков. Эффекты фуллерена на сухую массу корня растений в среде Кнопа были менее выражены: достоверных изменений не отмечено, хотя средние значения были ниже. Однако если растения росли на питательном растворе Кнопа, при воздействии 50 мг/л фуллерена в течение 14 сут сухая масса побегов повышалась.

Выявленные различия в чувствительности растений в зависимости от присутствия в среде питательных элементов могут быть связаны, по крайней мере отчасти, с анатомо-морфологическими и физиолого-биохимическими изменениями, характерными для различного физиологического состояния растений при их выращивании в воде и в растворе Кнопа. Вместе с тем нельзя исключить и наличие определенных различий в активности отдельных механизмов стрессоустойчивости, обусловленных разным физиологическим состоянием растений одинакового календарного возраста. Также можно предположить, что эффект воздействия фуллерена может быть связан с изменением его физико-химических свойств в растворе солей.

Применение наночастиц сегодня представляется чрезвычайно важным в контексте устойчивого развития сельского хозяйства, что предполагает производство высококачественных безопасных продуктов питания и другой сельскохозяйственной продукции. Особый интерес к выявленным эффектам может быть связан с тем, что обработки с использованием углеродных нанопрепаратов могут существенно влиять на ранний рост проростка, напрямую воздействуя на фотосинтетическую активность первого листа, и могут быть эффективны для повышения урожайности, поскольку в течение вегетативного периода жизни растения подготавливается основа для репродуктивного периода.

Список использованных источников

1. Юрин, В. М. Нанофитофизиология – одно из перспективных направлений современной биологии / В. М. Юрин, О. В. Молчан // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2015. – № 4. – С. 122–128.
2. Antibacterial and antiproliferative activity of cationic fullerene derivatives / T. Mashino [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2003. – Vol. 13, N 24. – P. 4395–4397. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.09.040>
3. Husen, A. Carbon and fullerene nanomaterials in plant system / A. Husen, K. S. Siddiqi // J. Nanobiotechnol. – 2014. – Vol. 12, N 1. – P. 16–26. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-12-16>
4. Zaytseva, O. Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications / O. Zaytseva, G. Neumann // Chem. Biol. Technol. Agric. – 2016. – Vol. 3, N 1. – Art. 17. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0070-8>
5. Multiwalled carbon nanotubes and C 60 fullerenes differentially impact the accumulation of weathered pesticides in four agricultural plants / R. de la Torre-Roche [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2013. – Vol. 47, N 21. – P. 12539–12547. <https://doi.org/10.1021/es4034809>
6. Ma, X. Fullerene nanoparticles affect the fate and uptake of trichloroethylene in phytoremediation systems / X. Ma, C. Wang // Environ. Eng. Sci. – 2010. – Vol. 27, N 11. – P. 989–992. <https://doi.org/10.1089/ees.2010.0141>
7. Effects of aqueous stable fullerene nanocrystal (nC60) on *Scenedesmus obliquus*: evaluation of the sub-lethal photosynthetic responses and inhibition mechanism / X. Tao [et al.] // Chemosphere. – 2015. – Vol. 122. – P. 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.035>
8. Studies on the toxicity of an aqueous suspension of C60 nanoparticles using a bacterium (gen. *Bacillus*) and an aquatic plant (*Lemna gibba*) as *in vitro* model systems / S. M. A. Santos [et al.] // Aquat. Toxicol. – 2013. – Vol. 142–143. – P. 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.001>
9. Phytotoxicity of nanoparticles to seed germination of plants / S. Kumar [et al.] // Int. J. Adv. Res. – 2015. – Vol. 3, N 3. – P. 854–865.
10. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*) / C. Kole [et al.] // BMC Biotechnol. – 2013. – Vol. 13, N 1. – Art. 37. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-13-37>
11. Beuerle, F. Antioxidant properties of water-soluble fullerene derivatives / F. Beuerle, R. Lebovitz, A. Hirsch // Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes/ eds. : F. Cataldo, T. Da Ros. – Dordrecht, 2008. – P. 51–78.
12. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038-84 : введ. 01.07.86. – М. : Стандартинформ, 1985. – 29 с.

13. 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>
14. Relationship of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environment / J. M. Clarke [et al.] // *Can. J. Plant Sci.* – 1989. – Vol. 69, N 4. – P. 1057–1081. <https://doi.org/10.4141/cjps89-130>
15. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Высш. школа, 1973. – 320 с.
16. Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing / J. P. Giraldo [et al.] // *Nat. Mater.* – 2014. – Vol. 13, N 4. – P. 400–408. <https://doi.org/10.1038/nmat3890>
17. Biomimetic strategies for solar energy conversion : a technical perspective / A. A. Boghossian [et al.] // *Energy Environ. Sci.* – 2011. – Vol. 4, N 10. – P. 3834–3843. <https://doi.org/10.1039/c1ee01363g>
18. High photo-electrochemical activity of thylakoid-carbon nanotube composites for photosynthetic energy conversion / J. O. Calkins [et al.] // *Energy Environ. Sci.* – 2013. – Vol. 6, N 6. – P. 1891–1900. <https://doi.org/10.1039/c3ee40634b>
19. Single-walled carbon nanotubes alter cytochrome c electron transfer and modulate mitochondrial function / X. Ma [et al.] // *ACS Nano*. – 2012. – Vol. 6, N 12. – P. 10486–10496. <https://doi.org/10.1021/nn302457v>
20. Application of nanoparticle antioxidants to enable hyperstable chloroplasts for solar energy harvesting / A. A. Boghossian [et al.] // *Adv. Energy Mater.* – 2013. – Vol. 3, N 7. – P. 881–893. <https://doi.org/10.1002/aenm.201201014>
21. Николаева, М. Г. Биология семян / М. Г. Николаева, И. В. Лянгузова, Л. М. Поздова. – СПб. : Рос. акад. наук, Ботан. ин-т им. В. А. Комарова, 1999. – 233 с.
22. Сытник, К. М. Физиология листа / К. М. Сытник, Л. И. Мусатенко, Т. Л. Богданова. – Киев : Наук. думка, 1978. – 392 с.
23. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения. Распространение и метаболизм в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 272 с.
24. Молчан, О. В. Влияние фуллеренола на прорастание семян, содержание фенольных соединений и их антирадикальную активность в проростках ячменя / О. В. Молчан, Л. В. Обуховская, В. Г. Реуцкий // *Тр. БГУ. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем*. – 2014. – Т. 9, ч. 1. – С. 56–61.
25. Влияние возрастных различий на реакцию растений ячменя на действие кадмия / Н. М. Казнина [и др.] // *Физиология растений*. – 2012. – Т. 59, № 1. – С. 74–79.
26. Dale, J. E. Growth and photosynthesis in the first leaf of barley. The effect of time of application of nitrogen / J. E. Dale // *Ann. Bot.* – 1972. – Vol. 36, N 5. – P. 967–979. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084658>
27. Araghi, G. S. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat / G. S. Araghi, M. T. Assad // *Euphytica*. – 1998. – Vol. 103. – P. 293–299. <https://doi.org/10.1023/A:1018307111569>
28. Келес, Ю. Рост и содержание ряда растворимых метаболитов у двух видов пшеницы, подвергнутых совместному действию нескольких стресс-факторов / Ю. Келес, И. Онсел // *Физиология растений*. – 2004. – Т. 51, N 2. – С. 228–233.
29. Dhanda, S. S. Inheritance of excised-leaf water loss and relative water content in bread wheat (*Triticum aestivum*) / S. S. Dhanda, G. S. Sethi // *Euphytica*. – 1998. – Vol. 104. – P. 39–47. <https://doi.org/10.1023/A:1018644113378>
30. Relationship of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environment / J. M. Clarke [et al.] // *Can. J. Plant Sci.* – 1989. – Vol. 69, N 4. – P. 1057–1081. <https://doi.org/10.4141/cjps89-130>
31. Sairam, R. K. Oxidative stress and antioxidants in wheat cultivars: possible mechanism of water stress tolerance / R. K. Sairam, D. C. Saxena // *J. Agron. Crop Sci.* – 2000. – Vol. 184, N 1. – P. 55–61. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x>
32. Влияние засухи до и после зацветания растений нута на ряд физиологических параметров возможных критериев засухоустойчивости / А. Гунес [и др.] // *Физиология растений*. – 2008. – Т. 55, № 1. – С. 64–72.
33. Ронжина, Д. А. Листовые функциональные черты и биомасса растений ветландов в лесной и степной зонах / Д. А. Ронжина, Л. А. Иванова, Л. А. Иванов // *Физиология растений*. – 2019. – Т. 66, № 3. – С. 207–217.
34. Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops / M. H. Lahiani [et al.] // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2013. – Vol. 5, N 16. – P. 7965–7973. <https://doi.org/10.1021/am402052x>
35. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community / M. V. Khodakovskaya [et al.] // *Small*. – 2013. – Vol. 9, N 1. – P. 115–123. <https://doi.org/10.1002/sml.201201225>
36. Multiwalled carbon nanotubes in alfalfa and wheat: toxicology and uptake / P. Miralles [et al.] // *J. R. Soc. Interface*. – 2012. – Vol. 9, N 77. – P. 3514–3527. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0535>
37. Effects of functionalized and non functionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species / J. E. Sañas [et al.] // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2008. – Vol. 27, N 9. – P. 1922–1931. <https://doi.org/10.1897/08-117.1>
38. Куперман, Ф. М. Ячмень / Ф. М. Куперман // *Биология развития культурных растений : учеб. пособие / под ред. Ф. М. Куперман*. – М., 1982. – С. 143–152.
39. Батыгин, Н. Ф. Онтогенез высших растений / Н. Ф. Батыгин. – М. : Агропромиздат, 1986. – 100 с.
40. Полевой, В. В. Физиология целостности растительного организма / В. В. Полевой, Т. Е. Билова, Ю. И. Шевцов // *Физиология растений*. – 2001. – Т. 48, № 4. – С. 631–643.
41. Мокроносков, А. Т. Интеграция функций роста и фотосинтеза / А. Т. Мокроносков // *Физиология растений*. – 1983. – Т. 30, вып. 5. – С. 868–880.
42. Семихатова, О. А. Оценка адаптационной способности растения на основании исследований темного дыхания / О. А. Семихатова // *Физиология растений*. – 1998. – Т. 45, № 1. – С. 142–148.
43. Шматько, И. Г. Реакция растений на водный и высокотемпературный стрессы / И. Г. Шматько, И. А. Григорюк // *Физиология и биохимия культурных растений*. – 1992. – Т. 24, № 1. – С. 3–14.
44. Fellenberg, G. Developmental physiology / G. Fellenberg // *Progress in Botany / Fortschritte der Botanik / eds. : H. Ellenberg [et al.]*. – Berlin., 1976. – Vol. 38. – P. 167–186.

References

1. Yurin V. M., Molchan O. V. Nanophytophysiology – one of the promising areas of modern biology. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2015, no. 4, pp. 122–128 (in Russian).
2. Mashino T., Nishikawa D., Takahashi K., Usui N., Yamori T., Seki M., Endō T., Mochizuki M. Antibacterial and antiproliferative activity of cationic fullerene derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2003, vol. 13, no. 24, pp. 4395–4397. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.09.040>
3. Husen A., Siddiqi K. S. Carbon and fullerene nanomaterials in plant system. *Journal of Nanobiotechnology*, 2014, vol. 12, no. 1, pp. 16–26. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-12-16>
4. Zaytseva O., Neumann G. Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2016, vol. 3, no. 1, art. 17. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0070-8>
5. De la Torre-Roche R., Hawthorne J., Deng Y., Xing B., Cai W., Newman L., Wang Q., Ma X., Helmi H., White J. C. Multiwalled carbon nanotubes and c 60 fullerenes differentially impact the accumulation of weathered pesticides in four agricultural plants. *Environmental Science and Technology*, 2013, vol. 47, no. 21, pp. 12539–12547. <https://doi.org/10.1021/es4034809>
6. Ma X., Wang C. Fullerene nanoparticles affect the fate and uptake of trichloroethylene in phytoremediation systems. *Environmental Engineering Science*, 2010, vol. 27, no. 11, pp. 989–992. <https://doi.org/10.1089/ees.2010.0141>
7. Tao X., Yu Y., Fortner J. D., He Y., Chen Y., Hughes J. B. Effects of aqueous stable fullerene nanocrystal (nC₆₀) on *Scenedesmus obliquus*: evaluation of the sub-lethal photosynthetic responses and inhibition mechanism. *Chemosphere*, 2015, vol. 122, pp. 162–167. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.035>
8. Santos S. M. A., Dinis A. M., Rodrigues D. M. F., Peixoto F., Videira R. A., Jurado A. S. Studies on the toxicity of an aqueous suspension of C60 nanoparticles using a bacterium (gen. *Bacillus*) and an aquatic plant (*Lemna gibba*) as *in vitro* model systems. *Aquatic Toxicology*, 2013, vol. 142–143, pp. 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.001>
9. Kumar S., Patra A. K., Datta S. C., Rosin K. G., Purakayastha T. J. Phytotoxicity of nanoparticles to seed germination of plants. *International Journal of Advanced Research*, 2015, vol. 3, pp. 854–865.
10. Kole C., Kole P., Randunu K. M., Choudhary P., Podila R., Ke P. C., Rao A. M., Marcus R. K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*). *BMC Biotechnology*, 2013, vol. 13, no. 1, art. 37. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-13-37>
11. Beuerle F., Lebovitz R., Hirsch A. Antioxidant properties of water-soluble fullerene derivatives. *Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes*. Dordrecht, 2008, pp. 51–78.
12. *State Standard 12038-84. Seeds of crops. Methods for determination of germination*. Moscow, Standartinform Publ., 1985. 29 p. (in Russian).
13. Cerovic Z. G., Masdoumier G., Ghozlen 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>
14. Clarke J. M., Romagosa I., Jana S., Srivastava J. P., McCaig T. N. Relationship of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environment. *Canadian Journal of Plant Science*, 1989, vol. 69, no. 4, pp. 1057–1081. <https://doi.org/10.4141/cjps89-130>
15. Rokitskii P. F. *Biological statistics*. Minsk, Vysshaya shkola Publ., 1973. 320 p. (in Russian).
16. Giraldo J. P., Landry M. P., Faltermeier S. M., McNicholas T. P., Iverson N. M., Boghossian A. A. [et al.]. Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. *Nature Materials*, 2014, vol. 13, no. 4, pp. 400–408. <https://doi.org/10.1038/nmat3890>
17. Boghossian A. A., Ham M. H., Choi J. H., Strano M. S. Biomimetic strategies for solar energy conversion: a technical perspective. *Energy and Environmental Science*, 2011, vol. 4, no. 10, pp. 3834–3843. <https://doi.org/10.1039/c1ee01363g>
18. Calkins J. O., Umasankar Y., O'Neill H., Ramasamy R. P. High photo-electrochemical activity of thylakoid-carbon nanotube composites for photosynthetic energy conversion. *Energy and Environmental Science*, 2013, vol. 6, no. 6, pp. 1891–1900. <https://doi.org/10.1039/c3ee40634b>
19. Ma X., Zhang L., Wang L., Xue X., Sun J., Wu Y. [et al.]. Single-walled carbon nanotubes alter cytochrome c electron transfer and modulate mitochondrial function. *ACS Nano*, 2012, vol. 6, no. 12, pp. 10486–10496. <https://doi.org/10.1021/nn302457v>
20. Boghossian A. A., Şen F., Gibbons B. M., Şen S., Faltermeier S. M., Giraldo J. P., Zhang C. T., Zhang J., Heller D. A., Strano M. S. Application of nanoparticle antioxidants to enable hyperstable chloroplasts for solar energy harvesting. *Advanced Energy Materials*, 2013, vol. 3, no. 7, pp. 881–893. <https://doi.org/10.1002/aenm.201201014>
21. Nikolaeva M. G., Lyanguzova I. V., Pozdova L. M. *Seed biology*. St. Petersburg, Russian Academy of Sciences, Botanical Institute named after V. A. Komarova, 1999. 233 p. (in Russian).
22. Sytnik K. M., Musatenko L. I., Bogdanova T. L. *Leaf physiology*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1978. 392 p. (in Russian).
23. Zaprometov M. N. *Phenolic compounds. Distribution and metabolism in plants*. Moscow, Nauka Publ., 1993. 272 p. (in Russian).
24. Molchan O. V., Obukhovskaya L. V., Reutskii V. G. The effect of fulleranol on seed germination, the content of phenolic compounds and their antiradical activity in barley seedlings. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funktsionirovaniya biosistem* [Proceedings of the Belarusian State

University. Physiological, biochemical and molecular bases of the functioning of biosystems], 2014, vol. 9, pt. 1, pp. 56–61 (in Russian).

25. Kaznina N. M., Titov A. F., Topchieva L. V., Laidinen G. F., Batova Yu. V. The effect of age-related differences on the reaction of barley plants on the action of cadmium. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 2012, vol. 59, no. 1, pp. 74–79 (in Russian).

26. Dale J. E. Growth and photosynthesis in the first leaf of barley. The effect of time of application of nitrogen. *Annals of Botany*, 1972, vol. 36, no. 5, pp. 967–979. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084658>

27. Araghi G. S., Assad M. T. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat. *Euphytica*, 1998, vol. 103, pp. 293–299. <https://doi.org/10.1023/A:1018307111569>

28. Keles Yu., Onsel I. The growth and content of a number of soluble metabolites in two types of wheat, subjected to the combined action of several stress factors. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 2004, vol. 51, no. 2, pp. 228–233 (in Russian).

29. Dhanda S. S., Sethi G. S. Inheritance of excised-leaf water loss and relative water content in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*, 1998, vol. 104, pp. 39–47. <https://doi.org/10.1023/A:1018644113378>

30. Clarke J. M., Romagosa I., Jana S., Srivastava J. P., McCaig T. N. Relationship of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environment. *Canadian Journal of Plant Science*, 1989, vol. 69, no. 4, pp. 1057–1081. <https://doi.org/10.4141/cjps89-130>

31. Sairam R. K., Saxena D. C. Oxidative stress and antioxidants in wheat cultivars: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2000, vol. 184, no. 1, pp. 55–61. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x>

32. Gunes A., Inal A., Adak M. S., Bagtsi E. G., Tsitsek N., Eraslan F. Effect of drought before and after flowering of chickpea plants on a number of physiological parameters of possible criteria for drought tolerance. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 2008, vol. 55, no. 1, pp. 64–72 (in Russian).

33. Ronzhina D. A., Ivanova L. A., Ivanov L. A. Leaf functional features and biomass of wetland plants in the forest and steppe zones. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 2019, vol. 66, no. 3, pp. 207–217 (in Russian).

34. Lahiani M. H., Dervishi E., Chen J., Nima Z., Gaume A., Biris A. S., Khodakovskaya M. V. Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2013, vol. 5, no. 16, pp. 7965–7973. <https://doi.org/10.1021/am402052x>

35. Khodakovskaya M. V., Kim B.-S., Kim J. N., Alimohammadi M., Dervishi E., Mustafa T., Cernigla C. E. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. *Small*, 2013, vol. 9, no. 1, pp. 115–123. <https://doi.org/10.1002/sml.201201225>

36. Miralles P., Johnson E., Church T. L., Harris A. T. Multiwalled carbon nanotubes in alfalfa and wheat: toxicology and uptake. *Journal of The Royal Society Interface*, 2012, vol. 9, no. 77, pp. 3514–3527. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0535>

37. Cañas J. E., Long M., Nations S., Vadan R., Dai L. L., Luo M., Ambikapathi R., Lee E. H., Olszyk D. M. Effects of functionalized and non-functionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, vol. 27, no. 9, pp. 1922–1931. <https://doi.org/10.1897/08-117.1>

38. Kuperman F. M. Barley. *Biology of the development of cultivated plants*. Moscow, 1982, pp. 143–152 (in Russian).

39. Batygin N. F. *Ontogenesis of higher plants*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1986. 100 p. (in Russian).

40. Polevoi V. V., Bilova T. E., Shevtsov Yu. I. Physiology of the integrity of the plant organism. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 2001, vol. 48, no. 4, pp. 631–643 (in Russian).

41. Mokronosov A. T. Integration of growth and photosynthesis. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 1983, vol. 30, iss. 5, pp. 868–880 (in Russian).

42. Semikhatova O. A. Evaluation of the adaptive capacity of plants on the basis of dark respiration studies. *Fiziologiya rastenii = Plant physiology*, 1998, vol. 45, no. 1, pp. 142–148 (in Russian).

43. Shmat'ko I. G., Grigoryuk I. A. Plant response to water and high temperature stresses. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rastenii = Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 1992, vol. 24, no. 1, pp. 3–14 (in Russian).

44. Fellenberg G. Developmental physiology. *Progress in Botany / Fortschritte der Botanik. Vol. 38*. Berlin., 1976, pp. 167–186.

Информация об авторах

Молчан Ольга Викторовна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olga_molchan@mail.ru

Зубей Екатерина Сергеевна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: katya.zubej@yandex.by

Information about the authors

Olga V. Molchan – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olga_molchan@mail.ru

Ekaterina S. Zubei – 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: katya.zubej@yandex.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 634.11:632
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-88-97>

Поступила в редакцию 15.04.2020
Received 15.04.2020

Т. Н. Божидай, Е. В. Колбанова, Н. В. Кухарчик

Институт плодоводства, а/г Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛОРУССКИХ ИЗОЛЯТОВ ФИТОПЛАЗМЫ ЯБЛОНИ

Аннотация. Для выявления фитоплазмы яблони в осенний период наиболее подходящими образцами для диагностических исследований являются корни, а при наличии ярко выраженных характерных симптомов («ведьмины метлы») можно использовать симптоматичные побеги.

Методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с праймерами Phyto-F/Phyto-R и зондом Phyto-P и гнездовой ПЦР с праймерами P1/Tint и fO1/rO1 позволяют диагностировать *Candidatus Phytoplasma mali* с высокой степенью чувствительности и воспроизводимости.

Сравнение нуклеотидных последовательностей белорусских изолятов с последовательностями, представленными в EMBL/GenBank, показало, что все белорусские изоляты фитоплазмы, выявленные на растениях яблони сортов Алеся, Сябрына, Память Сикоры, относятся к виду *Candidatus Phytoplasma mali*. Нуклеотидные последовательности помещены в международную базу данных (EMBL/GenBank) с присвоением идентификационных номеров (LR701160, LR701188, LR701436, LR701155, LR701438, LR701439, LR701440). Идентичность нуклеотидных последовательностей фрагмента 16S rRNA гена белорусских образцов *Ca. P. mali* варьировалась от 99,7 до 100,0 %, участка *hflB* гена – от 99,6 до 100,0 %.

Ключевые слова: яблоня, фитоплазма, ДНК, ПЦР, филогенетический анализ, Беларусь

Для цитирования: Божидай, Т. Н. Идентификация и молекулярная характеристика белорусских изолятов фитоплазмы яблони / Т. Н. Божидай, Е. В. Колбанова, Н. В. Кухарчик // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 88–97. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-88-97>

Tatsiana N. Bazhydai, Elena V. Kolbanova, Natallia V. Kukharchyk

Institute for Fruit Growing, a/c Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus

THE IDENTIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF BELARUSIAN APPLE PROLIFERATION PHYTOPLASMA ISOLATES

Abstract. It is known that optimal source of samples for diagnostic of apple proliferation phytoplasma in autumn is roots. In case of the occurrence of pronounced characteristic symptoms – “witches’ broom”, can be used symptomatic shoots.

Real-time PCR with primer pair Phyto-F/Phyto-R and probe Phyto-P and nested PCR with primer pair P1/Tint and fO1/rO1 can be used to detect *Candidatus Phytoplasma mali* with a high degree of sensitivity and reproducibility.

Comparison of the nucleotide sequences of Belarusian isolates with the sequences presented in EMBL/GenBank showed that all Belarusian phytoplasma isolates detected on apple cultivars Alesya, Syabryna, Pamyat Sikory belong to species *Candidatus Phytoplasma mali*. The nucleotide sequences are placed in international database (EMBL/GenBank) with identification numbers (LR701160, LR701188, LR701436, LR701155, LR701438, LR701439, LR701440). The identity of the nucleotide sequences of region of 16S rRNA gene of Belarusian samples of *Ca. P. mali* ranged from 99.7 to 100.0 %, and *hflB* gene region ranged from 99.6 to 100.0 %.

Keywords: apple, phytoplasma, DNA, PCR, phylogenetic analysis, Belarus

For citation: Bazhydai T. N., Kolbanova E. V., Kukharchyk N. V. The identification and molecular characteristics of Belarusian apple proliferation phytoplasma isolates. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 88–97 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-88-97>

Введение. Пролиферация яблони (возбудитель *Candidatus Phytoplasma mali*) является одним из экономически значимых заболеваний, приводящих к значительным потерям урожая и последующей гибели деревьев. *Ca. P. mali* относится к группе 16SrX (подгруппа А) [1, 2] и внесена Европейской и Средиземноморской организацией по защите растений в список А2 вредных организмов [3]. Ее присутствие не допускается при производстве сертифицированного посадочного материала, а зараженные образцы подлежат контролю.

Наиболее характерными симптомами поражения *Ca. P. mali* являются ветвящиеся в верхней трети тонкие побеги – «ведьмины метлы». Листья образуются мелкие, сильно зубчатые, с большими прилистниками и короткими черешками [3].

В результате накопления во флоэме фитоплазмы происходит отмирание отдельных тканей флоэмы. Такие изменения ослабляют устойчивость растений к комплексу экстремальных факторов среды абиотической, биотической и антропогенной природы, что приводит к гибели растений. Наиболее яркие признаки фитоплазмозов древесных растений проявляются в начальные периоды жизни дерева, а также на старовозрастных деревьях [4].

Фитоплазменная инфекция часто приводит к гибели растений и наносит огромный ущерб сельскохозяйственному производству. Так, в 2001 г. вспышка фитоплазменных заболеваний в насаждениях яблони причинила убытки на сумму около 100 млн евро в Италии и на 25 млн евро в Германии [5].

Привлечение современных методов диагностики позволяет установить фитосанитарный статус растений в насаждениях, своевременно выбраковать больные растения и выделить незараженные растения для создания маточно-черенковой базы [6, 7]. Основным методом выявления фитоплазмы является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Надежность ПЦР-анализа определяется концентрацией фитоплазмы в растении-хозяине, которая в свою очередь может варьироваться в зависимости от штамма или вида фитоплазмы, вида растения-хозяина, периода развития инфекции и погодных условий [8–11].

Достоверным методом определения вида фитоплазмы является секвенирование участков генома и их последующее сравнение с фитоплазмами из EMBL/GenBank, относящимися к разным видам.

Знание о локализации консервативных и варибельных областей внутри генома является важным для диагностики и разработки современных методов контроля патогена.

Цель работы – оценить наличие патогена *Candidatus Phytoplasma mali* в различных тканях яблони в осенний период и эффективность различных видов полимеразной цепной реакции для диагностики фитоплазмы, установить нуклеотидную последовательность фрагмента 16S rRNA и *hflB* генов белорусских изолятов фитоплазмы яблони.

Методика и материалы исследования. Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2019–2020 гг. Материалом для исследования служили деревья сортов яблони (*Malus domestica* Borkh.) Память Сикоры и Алеся (подвой 54-118, год посадки – 2006), Сябрына (подвой ПБ-4, год посадки – 2009).

С целью оптимизации отбора проб для тестирования яблони в осенний период на наличие фитоплазмы оценивали присутствие патогена в различных тканях растения-хозяина (деревья яблони сорта Память Сикоры) с визуальными симптомами фитоплазмы («ведьмины метлы»): корнях (проводящие ткани), побегах (проводящие ткани) и листьях.

ДНК выделяли с помощью коммерческого набора реактивов Genomic DNA Purification Kit (Termo Scientific, Литва). Концентрацию ДНК в полученном растворе измеряли с помощью спектрофотометра NanoPhotometer (Implen, Германия).

Для диагностики фитоплазмы использовали ПЦР в реальном времени с праймерами Phyto-F/Phyto-R и зондом Phyto-P, гнездовую ПЦР с праймерами P1/Tint и fO1/rO1, P1/P7 и R16F2n/R16R2 и классическую ПЦР с праймерами fhflB3_1/rhflB3 (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Праймеры, использованные для диагностики изолятов фитоплазмы яблони

Table 1. Primers used to detect apple phytoplasma isolates

Метод диагностики	Праймер	Последовательность (5'-3')	Источник
ПЦР в реальном времени	Phyto-F	CGTACGCAAGTATGAAACTTAAAGGA	[12]
	Phyto-R	TCTTCGAATTAAACAACATGATCCA	
	Phyto-P	FAM-TGACGGGACTCCGCACAAGCG-BHQ-1	
Гнездовая ПЦР	P1	AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT	[13]
	Tint	TCAGGCGTGTGCTCTAACCAGC	
	P1	AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT	

Окончание табл. 1

Метод диагностики	Праймер	Последовательность (5'-3')	Источник
	Tint	TCAGGCGTGTGCTCTAACCAGC	[14]
	fO1	CGGAAACTTTTAGTTTCAGT	
	rO1	AAGTGCCCAACTAAATGAT	
	P1	AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT	[15, 16]
	P7	CGTCCTTCATCGGCTCTT	
	R16F2n	GAAACGACTGCTAAGACTGG	[17, 18]
R16R2	TGACGGGCGGTGTGTACAACCCCG		
Классическая ПЦР	fhfB3_1	TTCTAGCTATTCATCGTGAA	[19]
	rhfB3	CGGCGGATTAGTAGCTCC	

Аmplификацию проводили с использованием для ПЦР в реальном времени ArtStart ДНК-полимеразу («АртБиоТех», Беларусь), для классической и гнездовой ПЦР – Taq DNA Polymerase (Thermo Scientific, Литва) и амплификатор C1000 Touch-CFX96 (Bio-Rad, США).

Температурный режим проведения гнездовой ПЦР для разных пар праймеров:

1) начальная денатурация при 95 °С в течение 5 мин; 35 циклов при 95 °С в течение 30 с, при 55 °С в течение 30 с и при 72 °С в течение 2 мин (для праймеров P1/tint) и 1,5 мин (для праймеров fO1/rO1); при 72 °С в течение 5 мин;

2) начальная денатурация при 95 °С в течение 5 мин; 35 циклов при 95 °С в течение 30 с, при 50 °С в течение 30 с (для праймеров P1/P7) и при 55 °С в течение 30 с (для праймеров R16F2n/R16R2) и при 72 °С в течение 2 мин; при 72 °С в течение 5 мин.

В качестве ДНК-матрицы для второго этапа гнездовой ПЦР использовали продукт ПЦР первого этапа в разведении 1:30.

Температурный режим проведения классической ПЦР: начальная денатурация при 95 °С в течение 5 мин; 35 циклов при 95 °С в течение 30 с, при 50 °С в течение 30 с и при 72 °С в течение 1 мин; при 72 °С в течение 5 мин.

Продукты амплификации после классической и гнездовой ПЦР анализировали с помощью электрофореза в 1 %-ном агарозном геле. Результаты электрофореза документировали с помощью аппаратного обеспечения Gel Doc System (Bio-Rad, США).

Температурный режим проведения ПЦР в реальном времени: начальная денатурация при 95 °С в течение 2 мин; 45 циклов при 95 °С в течение 5 с, при 60 °С в течение 30 с и при 67 °С в течение 15 мин.

Аmplифицированные фрагменты 16S rRNA гена 3 белорусских изолятов и *hfb* гена 7 белорусских изолятов были секвенированы на генетическом анализаторе AB 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси».

Для анализа нуклеотидных последовательностей использовали программный пакет MEGA 6.0. Множественное выравнивание последовательностей осуществляли при помощи Clustal W алгоритма. Филогенетические деревья были построены с помощью программы MEGA 6.0 методом Neighbour-Joining. Цифрами обозначены достоверности (в процентах) расхождения ветвей, выявленные с помощью бутстреп (bootstrap) анализа (1000 псевдореплик), который позволяет оценить статистическую надежность каждого из узлов построенного дерева. В случае бутстреп-поддержки ниже 70 % статистическая надежность данного узла считалась недостоверной. Масштаб показывает эволюционное расстояние, соответствующее пяти заменам на каждые 1000 нуклеотидов.

Результаты и их обсуждение. Для тестирования на наличие фитоплазмы в насаждениях яблони были взяты образцы (корни) в осенний период с 8 деревьев сорта Память Сикоры, имеющие визуальные симптомы фитоплазмы – «ведьмины метлы» (пролиферация пазушных побегов) (рис. 1). Молекулярные исследования подтвердили наличие фитоплазмы у этих 8 деревьев яблони. С помощью методов ПЦР в реальном времени с праймерами Phyto-F/Phyto-R и зондом Phyto-P, гнездовой ПЦР с праймерами P1/Tint и fO1/rO1, P1/P7 и R16F2n/R16R2 установлено 100 %-ное заражение образцов, в то время как классическая ПЦР с праймерами fhfB3_1/rhfB3 показала 87,5 % (7 положительных образцов из 8) (табл. 2).



Рис. 1. Побеги яблони сорта Память Сикоры с симптомами поражения фитоплазмой
 Fig. 1. Shoots of apple tree (cv. Pamyat Sikory) with symptoms of phytoplasma infection

Т а б л и ц а 2. Результаты тестирования яблони с визуальными симптомами на наличие фитоплазмы при использовании различных видов ПЦР (тип образца – корни)
 T a b l e 2. Results of testing of apple trees with visual symptoms for the presence of phytoplasma using various types of PCR (sample type – roots)

№ образца	Визуальные симптомы	ПЦР в реальном времени	Гнездовая ПЦР				Классическая ПЦР
		Праймеры					
		Phyto-F/Phyto-R/Phyto-P	P1/Tint	fO1/rO1	P1/P7	R16F2n/R16R2	fhflB3_1/rhflB3
2к	+	+	–	+	–	+	+
6к	+	+	–	+	–	+	+
7к	+	+	–	+	–	+	+
19к	+	+	+	+	–	+	+
21к	+	+	–	+	–	+	+
23к	+	+	–	+	–	+	+
24к	+	+	–	+	–	+	+
25к	+	+	–	+	–	+	–

У 4 деревьев яблони сорта Память Сикоры, имеющих визуальные симптомы фитоплазмы – «ведьмины метлы», кроме проводящих тканей корней для анализа различными видами ПЦР были взяты еще два типа образцов с наземной части растения – побеги (проводящие ткани) и листья. При проведении ПЦР в реальном времени и гнездовой ПЦР с праймерами P1/Tint и fO1/rO1 использование в качестве образцов листьев дает положительный результат в 3 случаях из 4 (75 %), при проведении гнездовой ПЦР с праймерами P1/P7 и R16F2n/R16R2 и классической ПЦР с праймерами fhflB3_1/rhflB3 положительный результат был получен в 2 случаях из 4 (50 %). Использование в качестве образцов проводящих тканей побега не дало ложноотрицательных результатов при использовании ПЦР в реальном времени, гнездовой и классической ПЦР (табл. 3).

У 9 визуально здоровых деревьев яблони сорта Память Сикоры заражение фитоплазмой было выявлено у 2 деревьев методами ПЦР в реальном времени, гнездовой и классической ПЦР, в качестве образцов брали проводящие ткани корней (табл. 4).

Т а б л и ц а 3. Результаты тестирования яблони с визуальными симптомами на наличие фитоплазмы при использовании разных типов образцов и видов ПЦР

T a b l e 3. Results of testing of apple trees with visual symptoms for the presence of phytoplasma using different types of samples and types of PCR

№ образца	Визуальные симптомы	ПЦР в реальном времени	Гнездовая ПЦР				Классическая ПЦР
		Праймеры					
		Phyto-F/Phyto-R/Phyto-P	P1/Tint	fO1/rO1	P1/P7	R16F2n/R16R2	fhflB3_1/rhflB3
6к	+	+	–	+	–	+	+
6п	+	+	+	+	+	+	+
6л	+	+	+	+	–	+	+
7к	+	+	–	+	–	+	+
7п	+	+	–	+	–	+	+
7л	+	+	–	+	–	–	+
19к	+	+	+	+	–	+	+
19п	+	+	+	+	–	+	+
19л	+	+	–	+	–	+	–
25к	+	+	–	+	–	+	–
25п	+	+	–	+	–	+	+
25л	+	–	–	–	–	–	–

П р и м е ч а н и е. Исследуемые образцы: к – корни, п – побеги, л – листья.

Т а б л и ц а 4. Результаты тестирования визуально здоровой яблони на наличие фитоплазмы при использовании различных видов ПЦР (тип образца – корни)

T a b l e 4. Results of testing of visually healthy apple for the presence of phytoplasma when using various types of PCR (sample type – roots)

№ образца	Визуальные симптомы	ПЦР в реальном времени	Гнездовая ПЦР				Классическая ПЦР
		Праймеры					
		Phyto-F/Phyto-R/Phyto-P	P1/Tint	fO1/rO1	P1/P7	R16F2n/R16R2	fhflB3_1/rhflB3
9к	–	–	–	–	–	–	–
11к	–	–	–	–	–	–	–
12к	–	+	–	+	–	+	+
13к	–	+	–	+	–	+	+
14к	–	–	–	–	–	–	–
16к	–	–	–	–	–	–	–
17к	–	–	–	–	–	–	–
18к	–	–	–	–	–	–	–
20к	–	–	–	–	–	–	–

Таким образом, для выявления фитоплазмы яблони в осенний период наиболее подходящими образцами для диагностических исследований являются корни, а при наличии побегов с ярко выраженными симптомами («ведьмины метлы») можно использовать симптоматичные побеги. Методы ПЦР в реальном времени с праймерами Phyto-F/Phyto-R и зондом Phyto-P и гнездовой ПЦР с праймерами P1/Tint и fO1/rO1 позволяют диагностировать фитоплазму яблони с высокой степенью чувствительности и воспроизводимости. Преимуществами ПЦР в реальном времени являются высокая пропускная способность тестирования, так как не требуются дополнительные методы (электрофорез) для получения результата и меньше риск перекрестной контаминации, чем при классической и гнездовой ПЦР.

По данным M. Garcia-Чара с соавт. [10], при диагностике фитоплазмы истощения и отмирания груши (Pear decline phytoplasma) методом гнездовой ПЦР с использованием праймеров P1/P7 и fO1/rO1 из трех изученных образцов (жилки листьев, почки и стебли) лучшими являлись стебли, а период тестирования, позволяющий максимально выявить зараженные деревья, – зимние месяцы. По данным U. Schaper, E. Seemüller [20], у деревьев яблони и груши возбудитель фитоплазмы зимует преимущественно в корнях, а весной снова распространяется в наземную часть

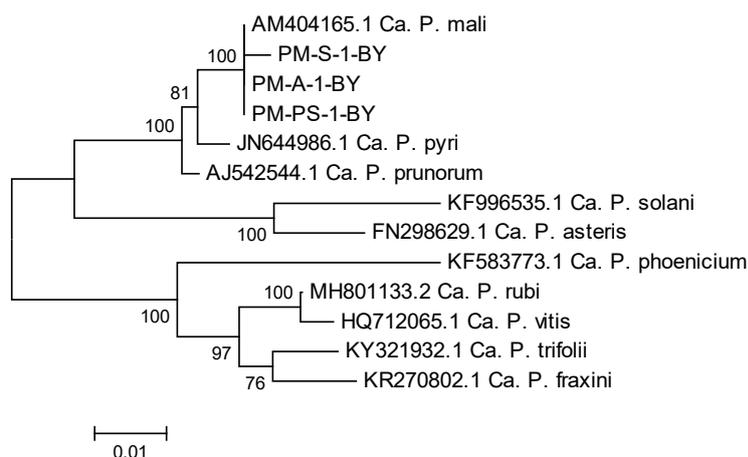


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное с помощью алгоритма Neighbour-Joining на основе сравнения нуклеотидных последовательностей участка 16S rRNA гена изолятов различных видов *Candidatus Phytoplasma*

Fig. 2. Phylogenetic tree constructed using the Neighbor-Joining algorithm on the basis of the comparison of nucleotide sequences of 16S rRNA gene fragment of isolates of various species of *Candidatus Phytoplasma*

растения, однако у больных деревьев отмечена возможность зимовки фитоплазмы в наземных частях растения в ситовидных трубках, появившихся в конце сезона в качестве замещающей флоэмы. Фитоплазма была успешно диагностирована методом ПЦР с праймерами P1/P7 в черешках и жилках листьев яблони, груши, вишни, персика, винограда, а также в корнях и спящей древесине груши, вишни и персика [21]. Методом гнездовой ПЦР с праймерами R16mF2/R16mR1 и R16F2n/R16R2 фитоплазма была выявлена в спящих почках в зимний период у деревьев яблони, вишни, персика, сливы, в то время как использование тканей междоузлий побегов дало положительный результат только у вишни и персика [22].

В результате молекулярно-генетических исследований были получены данные о нуклеотидных последовательностях участков 16S rRNA и *hflB* генов белорусских изолятов.

Полученные нуклеотидные последовательности фрагмента 16S rRNA гена 3 изолятов (PM-A-1-BY, PM-S-1-BY, PM-PS-1-BY) сравнивали с последовательностями, кодирующими ту же область следующих видов фитоплазм, представленных в базе данных EMBL/GenBank: *Ca. P. rubi* (MH801133.2), *Ca. P. vitis* (HQ712065.1), *Ca. P. trifolii* (KY321932.1), *Ca. P. fraxini* (KR270802.1), *Ca. P. phoenicium* (KF583773.1), *Ca. P. asteris* (FN298629.1), *Ca. P. prunorum* (AJ542544.1), *Ca. P. mali* (AM404165.1), *Ca. P. pyri* (JN644986.1), *Ca. P. solani* (KF996535.1) (рис. 2).

Сравнение нуклеотидных последовательностей выделенных белорусских изолятов с последовательностями, представленными в международной базе данных EMBL/GenBank, показало, что все белорусские изоляты фитоплазмы, выделенные из яблони сортов Алеся, Сябрына, Память Сикоры, относятся к виду *Ca. P. mali*.

Следует отметить, что идентичность последовательностей участков гена *Ca. P. mali* с изолятами, приведенными в базе данных EMBL/GenBank, варьировалась от 93,5 до 100,0 %.

Полученные нуклеотидные последовательности были депонированы в международной базе данных (EMBL/GenBank) с присвоением идентификационных номеров (табл. 5).

Идентичность нуклеотидных последовательностей участка 16S rRNA гена белорусских образцов *Ca. P. mali* варьировалась от 99,7 до 100,0 %, участка *hflB* гена – от 99,6 до 100,0 %.

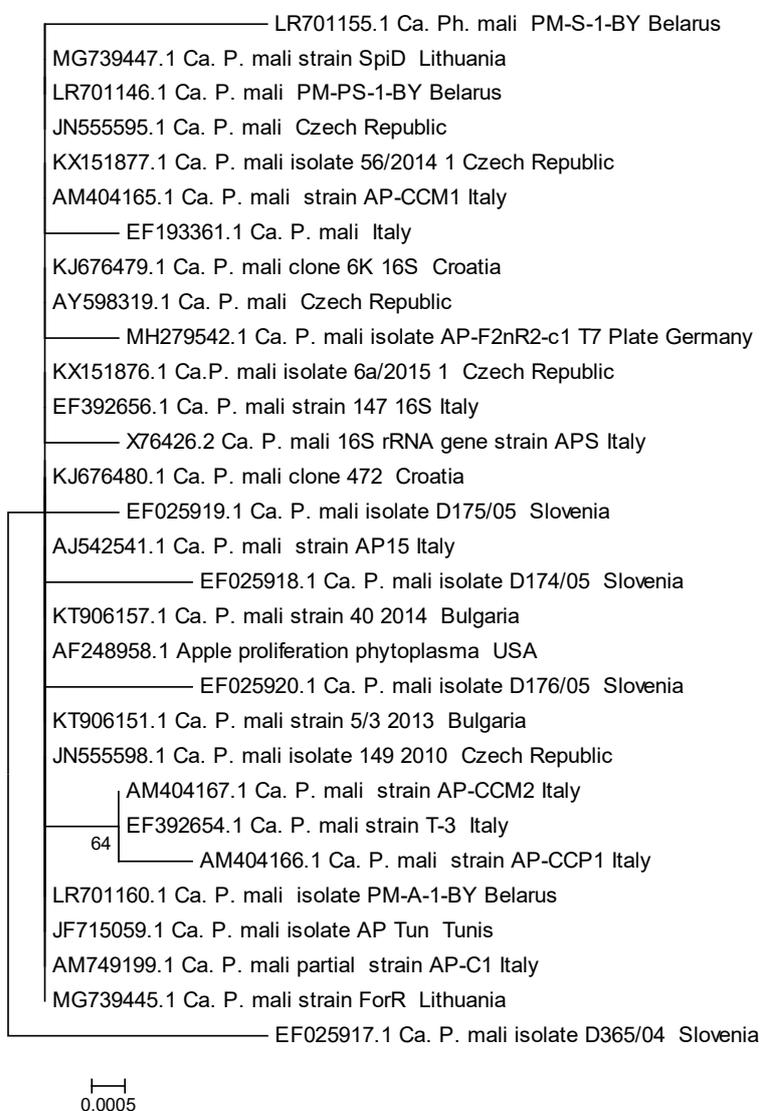
Филогенетическое древо, представленное на рис. 3, отражает степень генетического сходства изолятов *Ca. P. mali*. Кластерный анализ изучаемых и ранее опубликованных нуклеотидных последовательностей фрагмента 16S rRNA гена изолятов *Ca. P. mali* показал, что последовательности были близкородственными, корреляции между группированием изолятов и их географическим происхождением не обнаружено (рис. 3).

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента *hflB* гена показал, что белорусские изоляты находятся в одном кластере (рис. 4).

Таблица 5. Выделенные из растений яблони белорусские изоляты фитоплазмы, депонированные в международной базе данных (EMBL/GenBank)

Table 5. Belarusian phytoplasma isolates from apple plants deposited in the international database (EMBL/GenBank)

Сорт	Подвой	Год посадки	Название изолята	Участок генома	№ нуклеотидной последовательности (GenBank)
Алеся	54-118	2006	PM-A-1-BY	16S rRNA	LR701160
			PM-A-2-BY	hflB	LR701188
			PM-A-3-BY	hflB	LR701436
Сябрына	ПБ-4	2009	PM-S-1-BY	16S rRNA	LR701155
			PM-S-2-BY	hflB	LR701438
			PM-S-3-BY	hflB	LR701439
Память Сикоры	54-118	2006	PM-PS-1-BY	16S rRNA	LR701146
			PM-PS-2-BY	hflB	LR701437
			PM-PS-3-BY	hflB	LR701441
			PM-PS-4-BY	hflB	LR701440

Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное с помощью алгоритма Neighbour-Joining на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента 16S rRNA гена для штаммов *Ca. P. mali*Fig. 3. Phylogenetic tree constructed using Neighbor-Joining algorithm on the basis of the comparison of the nucleotide sequences of 16S rRNA gene fragment for strains of *Ca. P. mali*

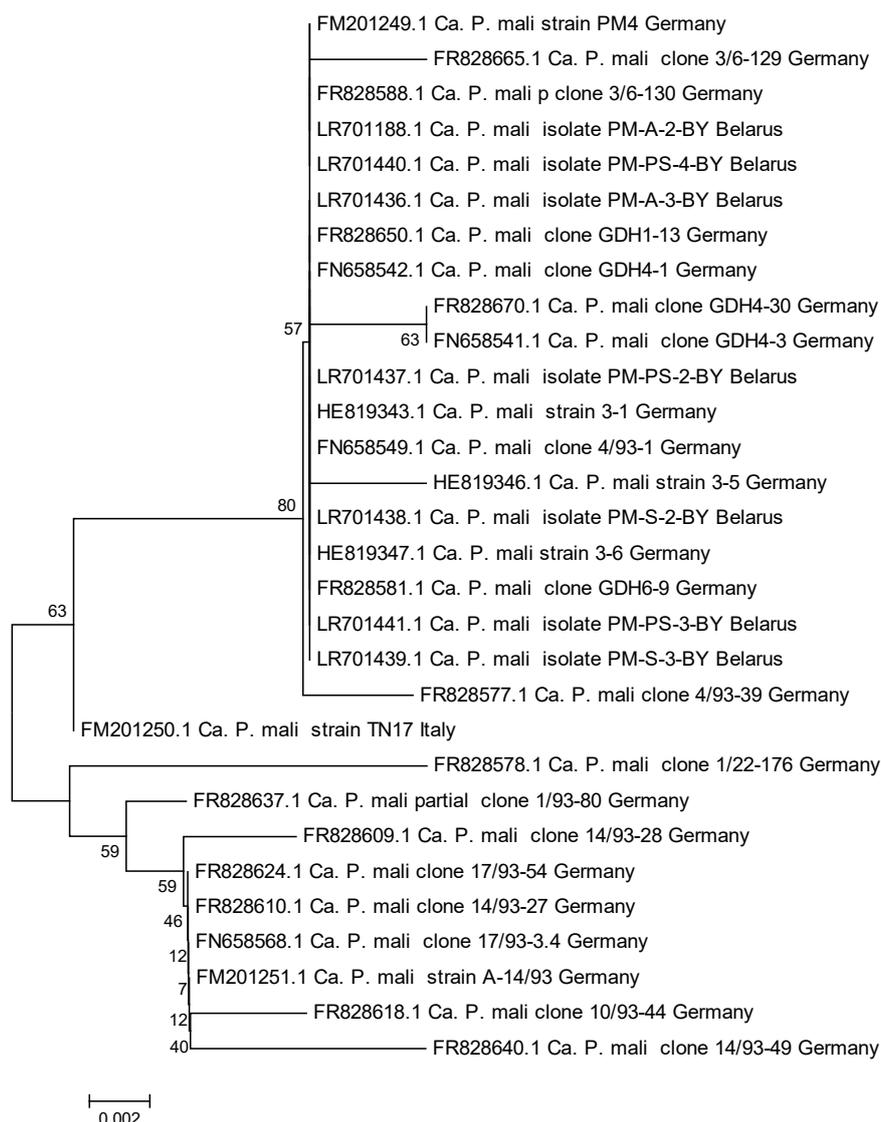


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное с помощью алгоритма Neighbour-Joining на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента *hflB* гена для штаммов *Ca. P. mali*

Fig. 4. Phylogenetic tree constructed using the Neighbor-Joining algorithm on the basis of the comparison of the nucleotide sequences of *hflB* gene fragment for strains of *Ca. P. mali*

Так как данные о нуклеотидных последовательностях фрагмента *hflB* гена *Ca. P. mali* в настоящее время представлены В. Schneider и Е. Seemuller [19] в базе данных EMBL/GenBank в основном только из Германии, нельзя однозначно утверждать, что имеется зависимость между группированием изолятов и их географическим происхождением.

Заклучение. Для выявления фитоплазмы яблони в осенний период наиболее подходящими образцами для диагностических исследований являются корни, а при наличии ярко выраженных характерных симптомов на побегах («ведьмины метлы») можно использовать симптоматичные побеги.

Методы ПЦР в реальном времени с праймерами Phyto-F/Phyto-R и зондом Phyto-P и гнездовой ПЦР с праймерами P1/Tint и fO1/rO1 позволяют диагностировать *Candidatus Phytoplasma mali* с высокой степенью чувствительности и воспроизводимости.

Сравнение нуклеотидных последовательностей выделенных белорусских изолятов с последовательностями, представленными в международной базе данных EMBL/GenBank, показало, что все белорусские изоляты фитоплазмы, выявленные на растениях яблони сортов Алеся, Сябрына, Память Сикоры, относятся к виду *Ca. P. mali*. Нуклеотидные последовательности помеще-

ны в международную базу данных (EMBL/GenBank) с присвоением идентификационных номеров (LR701160, LR701188, LR701436, LR701155, LR701438, LR701439, LR701146, LR701437, LR701441, LR701440). Идентичность нуклеотидных последовательностей участка 16S rRNA гена белорусских образцов *Ca. P. mali* варьировалась от 99,7 до 100,0 %, участка *hflB* гена – от 99,6 до 100,0 %.

Список использованных источников

1. Seemuller, E. ‘*Candidatus Phytoplasma mali*’, ‘*Candidatus Phytoplasma pyri*’ and ‘*Candidatus Phytoplasma prunorum*’, the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively / E. Seemuller, B. Schneider // Int. J. System. Evol. Microbiol. – 2004. – Vol. 54. – P. 1217–1226. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02823-0>
2. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences / I.-M. Lee [et al.] // Int. J. System. Bacteriol. – 1998. – Vol. 48, N 4. – P. 1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
3. PM 7/62 (2) ‘*Candidatus phytoplasmas mali*’, ‘*Ca. P. pyri*’ and ‘*Ca. P. prunorum*’ // EPPO Bull. – 2017. – Vol. 47, N 2. – P. 146–163. <https://doi.org/10.1111/epp.12380>
4. Maejima, K. Exploring the phytoplasmas, plant pathogenic bacteria / K. Maejima, K. Oshima, Sh. Namba // J. Gen. Plant Pathol. – 2014. – Vol. 80, N 3. – P. 210–221. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0512-8>
5. Eben, A. Innovative vector control [Electronic resource] / A. Eben, J. Gross // New perspectives in phytoplasma disease management / COST action FA0807 Workshop. – Barcelona, Spain, 2013. – P. 38–40. – Mode of access : <http://costphytoplasma.ipwgn.net/PDF%20files/BOOK%20COST%20BCN%202013%20080313web.pdf>. – Date of access : 02.03.2019.
6. Bertaccini, A. Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research / A. Bertaccini, B. Duduk // Phytopathologia Mediterranea. – 2009. – Vol. 48, N 3. – P. 355–378.
7. Marzachi, C. Molecular diagnosis of phytoplasmas / C. Marzachi // Arab J. Plant Protection. – 2006. – Vol. 24, N 2. – P. 139–142.
8. Berges, R. Range of phytoplasma concentration in various hosts as determined by competitive polymerase chain reaction / R. Berges, M. Rott, E. Seemüller // Phytopathology. – 2000. – Vol. 90, N 10. – P. 1145–1152. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2000.90.10.1145>
9. Constable, F. E. Seasonal distribution of phytoplasmas in Australian grapevines / F. E. Constable, K. S. Gibb, R. H. Symons // Plant Pathol. – 2003. – Vol. 52, N 3. – P. 267–276. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00849.x>
10. Seasonal detection of pear decline phytoplasma by nested-PCR in different pear cultivars / M. Garcia-Chapa [et al.] // Plant Pathol. – 2003. – Vol. 52, N 4. – P. 513–520. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00868.x>
11. Spatiotemporal distribution of flavescence doree phytoplasma in grapevine / N. Prezlj [et al.] // Plant Pathol. – 2012. – Vol. 62, N 4. – P. 760–766. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02693.x>
12. Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging / N. M. Christensen [et al.] // Molecular Plant – Microbe Interactions. – 2004. – Vol. 17, N 11. – P. 1175–1184. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.11.1175>
13. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region / C. D. Smart [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1996. – Vol. 62, N 8. – P. 2988–2993. <https://doi.org/10.1128/aem.62.8.2988-2993.1996>
14. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and non-ribosomal DNA / K. H. Lorenz [et al.] // Phytopathology. – 1995. – Vol. 85. – P. 771–776. <https://doi.org/10.1094/Phyto-85-771>
15. Deng, S. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes / S. Deng, C. Hiruki // J. Microbiol. Meth. – 1991. – Vol. 14, N 1. – P. 53–61. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(91\)90007-D](https://doi.org/10.1016/0167-7012(91)90007-D)
16. Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology / ed. : S. Razin, J. G. Tully. – San Diego : Academic Press, 1995. – 483 p.
17. Gundersen, D. E. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs / D. E. Gundersen, I.-M. Lee // Phytopathologia Mediterranea. – 1996. – Vol. 35, N 3. – P. 144–151.
18. Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy / I. M. Lee [et al.] // Phytopathology. – 1995. – Vol. 85. – P. 728–735. <https://doi.org/10.1094/Phyto-85-728>
19. Schneider, B. Strain differentiation of ‘*Candidatus Phytoplasma mali*’ by SSCP and sequence analyses of the *hflB* gene / B. Schneider, E. Seemuller // J. Plant Pathol. – 2009. – Vol. 91, N 1. – P. 103–112.
20. Schaper, U. Condition of the phloem and the persistence of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline / U. Schaper, E. Seemüller // Phytopathology. – 1982. – Vol. 72. – P. 736–742. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-736>
21. Green, M. J. Easy and efficient DNA extraction from woody plants for the detection of phytoplasmas by polymerase chain reaction / M. J. Green, D. A. Thompson, D. J. MacKenzie // Plant Disease. – 1999. – Vol. 83, N 5. – P. 482–485. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.5.482>
22. Waterworth, H. E. An Assessment of nested PCR to detect phytoplasmas in imported dormant buds and internodal tissues of quarantined tree fruit germ plasm / H. E. Waterworth, R. Mock // Plant Dis. – 1999. – Vol. 83, N 11. – P. 1047–1050. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.11.1047>

References

1. Seemuller E., Schneider B. ‘*Candidatus Phytoplasma mali*’, ‘*Candidatus Phytoplasma pyri*’ and ‘*Candidatus Phytoplasma prunorum*’, the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, vol. 54, pp. 1217–1226. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02823-0>

2. Lee I.-M., Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E., Bartoszyk I. M. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1998, vol. 48, no. 4, pp. 1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
3. PM 7/62 (2) ‘*Candidatus phytoplasma mali*’, ‘*Ca. P. pyri*’ and ‘*Ca. P. prunorum*’. *EPPO Bulletin*, 2017, vol. 47, no. 2, pp. 146–163. <https://doi.org/10.1111/epp.12380>
4. Maejima K., Oshima K., Namba Sh. Exploring the phytoplasmas, plant pathogenic bacteria. *Journal of General Plant Pathology*, 2014, vol. 80, no. 3, pp. 210–221. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0512-8>
5. Eben A., Gross J. *Innovative vector control*. New perspectives in phytoplasma disease management. COST action FA0807 Workshop. Barcelona, Spain, 2013, pp. 38–40. Available at: <http://costphytoplasma.ipwgn.net/PDF%20files/BOOK%20COST%20BCN%202013%20080313web.pdf> (accessed 02.03.2019).
6. Bertaccini A., Duduk B. Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. *Phytopathologia Mediterranea*, 2009, vol. 48, no. 3, pp. 355–378.
7. Marzachi C. Molecular diagnosis of phytoplasmas. *Arab Journal of Plant Protection*, 2006, vol. 24, no. 2, pp. 139–142.
8. Berges R., Rott M., Seemüller E. Range of phytoplasma concentration in various hosts as determined by competitive polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 2000, vol. 90, pp. 1145–1152. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.10.1145>
9. Constable F. E., Gibb K. S., Symons R. H. Seasonal distribution of phytoplasmas in Australian grapevines. *Plant Pathology*, 2003, vol. 52, no. 3, pp. 267–276. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00849.x>
10. Garcia-Chapa M., Medina V., Viruel M. A., Laviña A., Batlle A. Seasonal detection of pear decline phytoplasma by nested-PCR in different pear cultivars. *Plant Pathology*, 2003, vol. 52, no. 4, pp. 513–520. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00868.x>
11. Prezelj N., Nikolić P., Gruden K., Ravnika M., Dermastia M. Spatiotemporal distribution of flavescence doree phytoplasma in grapevine. *Plant Pathology*, 2012, vol. 62, no. 4, pp. 760–766. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02693.x>
12. Christensen N. M., Nicolaisen M., Hansen M., Schulz A. Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *Molecular Plant – Microbe Interactions*, 2004, vol. 17, no. 11, pp. 1175–1184. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.11.1175>
13. Smart C. D., Schneider B., Blomquist C. L., Guerra L. J., Harrison N. A., Ahrens U., Lorenz K. H., Seemüller E., Kirkpatrick B. C. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16S-23S rRNA spacer region. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, vol. 62, no. 8, pp. 2988–2993. <https://doi.org/10.1128/aem.62.8.2988-2993.1996>
14. Lorenz K.-H., Schneider B., Ahrens U., Seemüller E. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and non-ribosomal DNA. *Phytopathology*, 1995, vol. 85, pp. 771–776. <https://doi.org/10.1094/Phyto-85-771>
15. Deng S., Hiruki C. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes. *Journal of Microbiological Methods*, 1991, vol. 14, no. 1, pp. 53–61. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(91\)90007-D](https://doi.org/10.1016/0167-7012(91)90007-D)
16. Razin S., Tully J. G. (ed.). *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology*. San Diego, Academic Press, 1995. 483 p.
17. Gundersen D. E., Lee I.-M. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea*, 1996, vol. 35, no. 3, pp. 144–151.
18. Lee I.-M., Bertaccini A., Vibio M., Gundersen D. E. Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. *Phytopathology*, 1995, vol. 85, pp. 728–735. <https://doi.org/10.1094/Phyto-85-728>
19. Schneider B., Seemüller E. Strain differentiation of ‘*Candidatus Phytoplasma mali*’ by SSCP and sequence analyses of the *hflB* gene. *Journal Plant Pathology*, 2009, vol. 91, no. 1, pp. 103–112.
20. Schaper U., Seemüller E. Condition of the phloem and the persistence of mycoplasma-like organisms associated with apple proliferation and pear decline. *Phytopathology*, 1982, vol. 72, pp. 736–742. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-736>
21. Green M. J., Thompson D. A., MacKenzie D. J. Easy and efficient DNA extraction from woody plants for the detection of phytoplasmas by polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 1999, vol. 83, no. 5, pp. 482–485. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.5.482>
22. Waterworth H. E., Mock R. An Assessment of nested PCR to detect phytoplasmas in imported dormant buds and internodal tissues of quarantined tree fruit germ plasm. *Plant Disease*, 1999, vol. 83, no. 11, pp. 1047–1050. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.11.1047>

Інфармацыя аб аўтарах

Божыдай Тат'яна Николаевна – канд. біол. навук, ст. науч. супрацоўнік. Інстытут плодаводства (ул. Ковалева, 2, 223013, а/г Самохваловічы, Мінскі раён, Рэспубліка Беларусь). E-mail: tanya_bozhidaj@mail.ru

Колбанова Елена Вячеславовна – канд. біол. навук, доцент, заведуючыя лабараторыяй. Інстытут плодаводства (ул. Ковалева, 2, 223013, а/г Самохваловічы, Мінскі раён, Рэспубліка Беларусь). E-mail: kolbanova@tut.by

Кухарчык Натал'я Валер'евна – д-р с/х навук, прафесар, заведуючыя аддзелам. Інстытут плодаводства (ул. Ковалева, 2, 223013, а/г Самохваловічы, Мінскі раён, Рэспубліка Беларусь). E-mail: nkykharchyk@gmail.com

Information about the authors

Tatsiana N. Bazhydai – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute for Fruit Growing (2, Kovalyov Str., 223013, a/c Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: tanya_bozhidaj@mail.ru

Elena V. Kolbanova – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute for Fruit Growing (2, Kovalyov Str., 223013, a/c Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: kolbanova@tut.by

Natallia V. Kukharchyk – D. Sc. (Agric.), Professor, Head of the Department. Institute for Fruit Growing (2, Kovalyov Str., 223013, a/c Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: nkykharchyk@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 615.322
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-98-106>

Поступила в редакцию 23.10.2020
Received 23.10.2020

О. Н. Саванец, Е. В. Кравченко, П. Т. Петров

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ АНКСИОЛИТИКОВ ПРИРОДНОГО И СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ИНБРЕДНЫХ И АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ

Аннотация. Изучены особенности анксиолитического действия образцов природного (лекарственное растительное сырье (ЛРС) и фитокомпозиция на основе патринии средней, таблетки валерианы) и синтетического (олеаноловая кислота) происхождения. ЛРС патринии средней (1,7 мг/кг суммы сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту) и фитокомпозиция «Патриния» (3,6 мг/кг суммы сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту) снижали ситуационную тревожность у социально активных мышей-самцов ICR в приподнятом крестообразном лабиринте, превосходя по выраженности анксиолитического эффекта валериану и олеаноловую кислоту (основной агликон три萜пеновых сапонинов в корнях и корневищах *Patrinia intermedia*), применявшуюся в дозе 5,0–20,0 мг/кг. Фитопрепарат «Патриния» не проявлял активности в отношении генетически обусловленной патологически повышенной базовой тревожности мышей линии BALB/c в тесте «кубик».

Ключевые слова: патриния средняя, анксиолитическое действие, лекарственное растительное сырье, фитокомпозиция, мыши

Для цитирования: Саванец, О. Н. Особенности действия анксиолитиков природного и синтетического происхождения на инбредных и аутбредных мышей / О. Н. Саванец, Е. В. Кравченко, П. Т. Петров // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 98–106. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-98-106>

Oksana N. Savanets, Elena V. Kravchenko, Petr T. Petrov

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

FEATURES OF THE ACTION OF ANXIOLYTICS OF NATURAL AND SYNTHETIC ORIGIN ON INBRED AND OUTBRED MICE

Abstract. The features of the anxiolytic action of natural (medicinal plant raw materials (MPR) and phytocomposition based on *Patrinia intermedia*, *Valerian* tablets) and synthetic (oleanolic acid) objects were studied. It was found that the MPR of *Patrinia intermedia* (1.7 mg/kg of saponins in terms of oleanolic acid) and the phytocomposition “Patrinia” (3.6 mg/kg of saponins in terms of oleanolic acid) reduced situational anxiety in socially active male ICR mice in an elevated plus maze, exceeding the anxiolytic effect of *Valerian* and oleanolic acid (the main aglicon of triterpene saponins in the roots and rhizomes of *Patrinia intermedia*), used in doses of 5.0–20.0 mg/kg. It was revealed that «Patrinia» did not show activity in relation to the genetically determined pathologically increased basic anxiety in BALB / c mice in the “Cubic Box” test.

Keywords: *Patrinia intermedia*, anxiolytic effect, medicinal plant raw materials, phytocomposition, mice

For citation: Savanets O. N., Kravchenko E. V., Petrov P. T. Features of the action of anxiolytics of natural and synthetic origin on inbred and outbred mice. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 98–106 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-98-106>

Введение. В связи с широким распространением тревожных расстройств особую актуальность в последние десятилетия приобретает расширение арсенала анксиолитических лекарственных средств [1], в том числе растительного происхождения. Использование фитопрепаратов является перспективным направлением современной медицины и фармации, учитывая их «мягкое» воздействие, широкий терапевтический спектр, минимальное проявление побочных эффектов при рациональном применении, возможность включения в комплексные схемы лечения в комбинациях с синтетическими лекарственными препаратами. Кроме того, фитопрепараты могут играть ведущую роль на этапах профилактики, начала развития заболевания, периода поздней реконвалесценции и реабилитации.

Патриния (лат. *Patrinia*) – род растений из семейства Валериановые (*Valerianaceae*). Более 210 химических компонентов были выделены из растений рода патриния и идентифицированы. Веществами, определяющими биологическую активность патринии, являются тритерпеновые сапонины, иридоиды, флавоноиды и лигнаны. Методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией установлено, что агликоном тритерпеновых сапонинов в корнях и корневищах *Patrinia intermedia* является олеаноловая кислота (ОК), и идентифицировано 5 тритерпеновых сапонинов, содержащихся в корнях и корневищах *Patrinia intermedia* белорусской интродукции [2]. В коллекционном питомнике Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС НАН Беларуси) патриния средняя культивируется с 1979 г. [3].

Одним из значимых аспектов современной психофармакологии является исследование индивидуальных различий в действии психотропных препаратов, имеющих большое значение для разработки дифференцированной психофармакотерапии и прогноза ее эффективности [4].

До настоящего времени углубленного исследования психофармакологического действия патринии не проводилось. В связи с вышеизложенным актуально изучение анксиолитического действия лекарственного растительного сырья (ЛРС) и фитокомпозиции на основе патринии средней и индивидуальной чувствительности к ним; проведение анализа зависимости выраженности фармакологического (анксиолитического) эффекта патринии от количественного содержания биологически активных веществ (БАВ) – сапонинов (в пересчете на ОК).

Цель работы – изучение особенностей анксиолитического действия лекарственного растительного сырья и фитокомпозиции на основе патринии средней в сравнении с образцами природного (таблетки валерианы) и синтетического (олеаноловая кислота) происхождения.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись лабораторные грызуны, полученные из вивария сектора биоиспытаний Института биоорганической химии НАН Беларуси (ИБОХ НАН Беларуси): мыши-самцы линий BALB/c, C57Bl/6 и аутбредные особи ICR. При выполнении работы были использованы следующие образцы и фармакологические вещества:

1) корневища с корнями патринии средней (ЛРС) белорусской интродукции (получены из ЦБС НАН Беларуси). Порошок ЛРС вводили внутрижелудочно (в/ж) в дозе 64,5 мг/кг (1,7 мг/кг суммы сапонинов в пересчете на ОК);

2) фитокомпозиция «Патриния», образец произведен РПУП «Академфарм» ИБОХ НАН Беларуси, г. Минск, с. 011117, срок годности – до 11.19. Содержание патринозидов в пересчете на ОК в растительном сырье для производства фитопрепарата – 4,3 %. Содержание патринозидов в дозированной единице – не менее 15 мг. «Патриную» вводили в/ж в дозе 64,5 мг/кг содержимого капсулы (3,6 мг/кг суммы сапонинов в пересчете на ОК) [5];

3) олеаноловая кислота (ОК) (Sigma-Aldrich (США), lot MKCJ717); вещество вводили в/ж в дозах 5, 10 и 20 мг/кг;

4) «Валериана-Белмед» производства РУП «Белмедпрепараты», г. Минск, с. 1790518, срок годности – до 06.21. Лекарственное средство вводили в/ж в дозе 30 мг/кг.

Способ получения порошка ЛРС и процедура приготовления взвеси или растворов образцов описаны нами ранее [6].

Оценивали уровни ситуационной (тест «приподнятый крестообразный лабиринт»; ПКЛ) [7] и базовой тревожности (соответствует личностной тревожности у человека; тест «кубик») [8]. С целью определения индивидуальных характеристик поведения в ПКЛ до начала тестирования осуществляли экспресс-оценку типологических особенностей мышей ICR на основе регистрации зоосоциальных взаимодействий в микроколонии. Отбирали животных, избегавших контакта с интродуцентом – мышью C57Bl/6 (особи ICR с пассивным или timidным типом поведения). Кроме того, выделяли активных особей ICR с высоким уровнем контактирования; эти мыши характеризовались наличием поведенческих паттернов «обнюхивание» и/или «аллогрумминг», «обнюхивание» и/или «атака». Все эксперименты проводили в утренние и дневные часы с 9.00 до 15.00 в стандартных условиях [9], при искусственном или комбинированном освещении.

Приподнятый крестообразный лабиринт (эксперимент 1). Оценку влияния образцов ЛРС, «Патриния», «Валериана-Белмед» и ОК на уровень ситуационной тревожности осуществляли в ПКЛ (установка Elevanted plus maze фирмы Columbus Instrument Co, США), как описано

ранее [10]. На протяжении 3 мин поминутно регистрировали число заходов в открытые (*Nop.*) и закрытые (*Ncl.*) рукава, число свешиваний с открытых рукавов (*Nu.dip.*), продолжительность пребывания в открытых (*Top.*) и закрытых (*Tcl.*) рукавах, продолжительность пребывания на центральной площадке (*Tcentr.*), латентный период захода в открытый рукав (*ЛП*). Проведено 4 серии опытов, в ходе которых изучено: 1) влияние сезонности на поведение в ПКЛ (эксперимент 1А); 2) анксиолитическая активность ЛРС (эксперимент 1Б); 3) анксиолитическая активность «Патринии» (эксперимент 1В); 4) влияние на уровень тревожности ЛРС, «Валерианы-Белмед» и ОК, характеризующейся наличием анксиолитической активности и являющейся агликоном три-терпеновых сапонинов в корнях и корневищах патринии средней [2] (эксперимент 1Г). Сведения о формировании групп приведены в табл. 1.

Тест «кубик» (эксперимент 2). Изучали влияние фитокомпозиции на базовую тревожность с помощью теста «кубик» [8], оценивая ее действие на состояние страха в отношении незнакомого объекта (неофобия) у мышей BALB/c, характеризующихся генетически обусловленным высоким уровнем базовой тревожности [11]. Визуально регистрировали латентный период первого касания объекта (в секундах) – *ЛП куб.*, число касаний и суммарное время исследования объекта (в секундах).

Т а б л и ц а 1. Сведения о формировании групп животных, режиме, способах и дозах введенных им образцов

Table 1. Information about the formation of groups of animals, the regime, methods and doses of the samples introduced to them

Серия эксперимента	Линия, тип	Группа	Образцы, способ введения, доза	
			Растворитель	Фитопрепараты, ЛРС, фармакологические вещества
1А (ПКЛ; сезонность)	ICR, А	<i>n</i> = 29 (зимой) <i>n</i> = 50 (летом)	КК, в/ж	–
1Б (ПКЛ; ситуационная тревожность)	ICR, А	1 (<i>n</i> = 24)		–
		2 (<i>n</i> = 53)		ЛРС, в/ж, 1,7 мг/кг
1В (ПКЛ; ситуационная тревожность)	ICR, А	1 (<i>n</i> = 32)		–
		2 (<i>n</i> = 7)		«Патриния», в/ж, 3,6 мг/кг
1Г (ПКЛ; ситуационная тревожность)	ICR, А и П	1 (<i>n</i> = 61)		–
		2 (<i>n</i> = 26)		ЛРС, в/ж, 1,7 мг/кг
		3–5 (в каждой <i>n</i> = 10)		ОК, в/ж; 5, 10 и 20 мг/кг
		6 (<i>n</i> = 10)		«Валериана-Белмед», в/ж, 30 мг/кг
2 («кубик», базовая тревожность)	BALB/c	1 (<i>n</i> = 7)		–
		2 (<i>n</i> = 7)	Патриния», в/ж, 3,6 мг/кг	

Пр и м е ч а н и е. КК – крахмальный клейстер; фенотип: А – активный, П – пассивный.

Статистическую обработку результатов проводили с применением программного обеспечения Excel 2010, Statistica 6.0, Biostat 4.03.

Результаты и их обсуждение. Оценка влияния образцов на уровень ситуационной тревожности. Серия 1А. Сравнительная оценка влияния сезонности на поведение особей неранжированной популяции и социально активных мышей ICR в ПКЛ показала, что у животных, тестированных в разные сезоны, значения критериев *Top.*, *ЛП*, *Nop.*, *Nu.dip.* существенно не различались: в зимний период они составили $18,8 \pm 3,9$; $86,7 \pm 14,1$; $1,8 \pm 0,3$ и $0,4 \pm 0,2$ с, в летний период – $12,3 \pm 2,1$; $102,8 \pm 10,9$; $1,3 \pm 0,2$ и $0,8 \pm 0,2$ с соответственно. Это позволяет сопоставлять результаты, полученные в разные сезоны года.

Серия 1Б. Введение ЛРС способствовало снижению ситуационной тревожности социально активных особей ICR (рис. 1). Анксиолитический эффект ЛРС проявлялся статистически значимым возрастанием продолжительности пребывания в открытых рукавах (в 2,5 раза), числа заходов в открытые рукава (в 2,6 раза), числа свешиваний (в 2,4 раза) и снижением ЛП (в 2,6 раза) относительно контроля ($p < 0,05$). Статистически достоверное повышение продолжительности

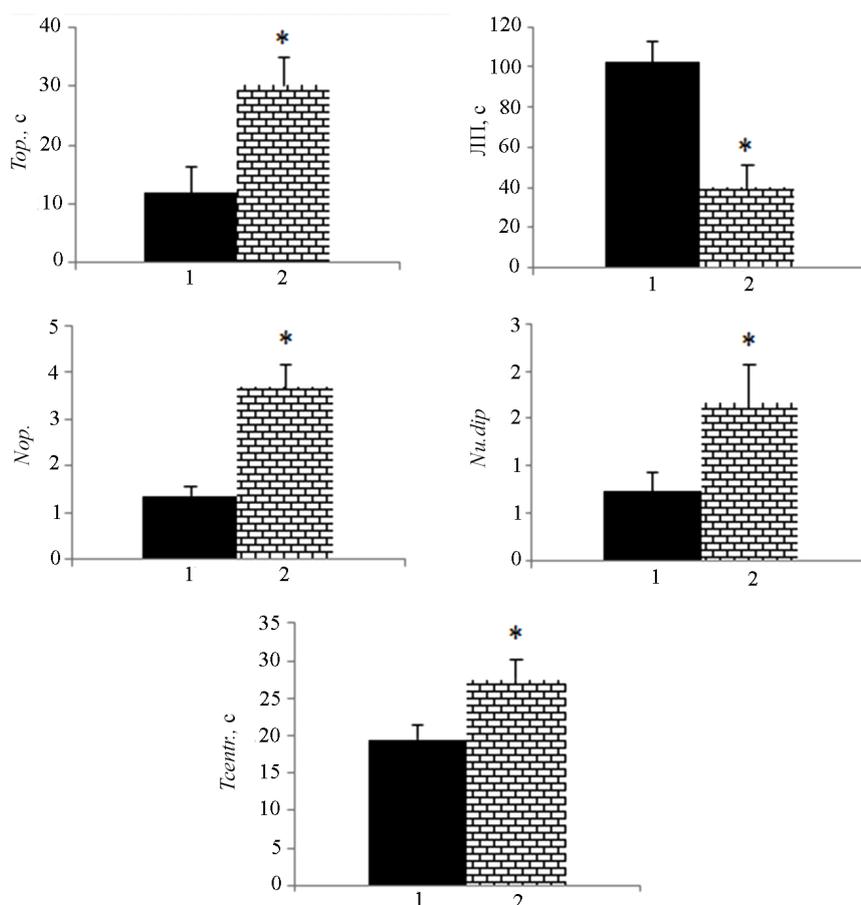


Рис. 1. Влияние ЛРС (1,7 мг/кг в пересчете на олеаноловую кислоту) на поведение социально активных мышей ICR в ПКЛ (продолжительность наблюдения – 3 мин): 1 – контроль, 2 – ЛРС; * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем, критерий Манна–Уитни; *Top.* – продолжительность пребывания в открытых рукавах, *Tcentr.* – продолжительность пребывания на центральной площадке, *ЛП* – латентный период первого захода в открытый рукав, *Nop.* – число заходов в открытые рукава, *Nu.dip.* – число свешиваний с открытых рукавов

Fig. 1. Influence of MPR (1,7 mg / kg in terms of oleanolic acid) on the behavior of socially active ICR mice in EPM when observed for 3 minutes: 1 – control; 2 – MPR; * – $p < 0.05$ versus control, Mann–Whitney test; *Top.* – length of stay in open arms, *Tcentr.* – length of stay at the central site, *ЛП* – latency period of the first entry into the open arms, *Nop.* – number of entries into open arms, *Nu.dip.* – number of hanging from open arms

пребывания на центральной площадке мышей основной группы в сравнении с контролем указывает на увеличение времени принятия решения (отсрочивание выбора в пользу захода в «безопасный» рукав).

Серия IV. Оценку эффектов «Патринии» осуществляли с использованием данных, относящихся к особям ICR с умеренным и высоким уровнем зоосоциальной активности (1 и более зоосоциальных контактов). Применение «Патринии» способствовало увеличению доли мышей в популяции, у которых число свешиваний с открытых рукавов превышало 1 (рис. 2), что указывает на наличие статистически достоверного анксиолитического действия ($p < 0,05$).

Серия IV. ЛРС статистически достоверно снижало уровень ситуационной тревожности мышей ICR с активным фенотипом поведения по показателям *Top.* (рис. 3, A-1), *Nop.* (рис. 3, C-1) за 3 мин наблюдения и не оказывало влияния на значения тех же критериев у «тиmidных» особей. У мышей с пассивным (но не с активным) фенотипом поведения применение ЛРС способствовало достоверному снижению ЛП (рис. 3, B-2).

Применение ОК в дозе 5,0 мг/кг (но не 10,0 или 20,0 мг/кг) «тиmidным» (но не активным) мышам способствовало симбатному статистически значимому возрастанию значений *Nop.* (рис. 3, C-2) и *Ncl.* (в 1,8 раза) в сравнении с соответствующим контролем, что указывает на существенное стимулирующее действие соединения в отношении двигательной активности и элиминиро-

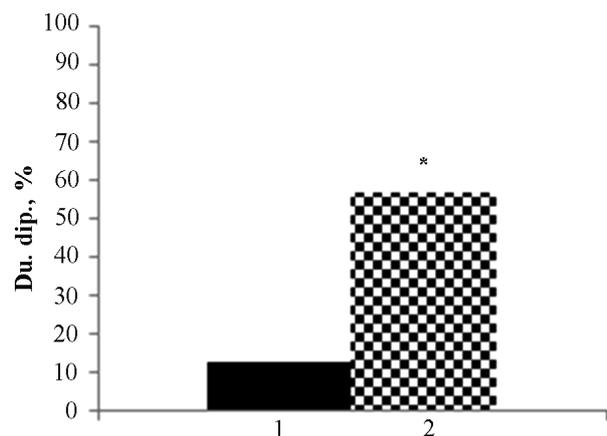


Рис. 2. Влияние фитокомпозиции «Патриния» (3,6 мг/кг в пересчете на олеаноловую кислоту) на поведение мышей ICR с умеренным и высоким уровнем зоосоциальной активности в ПКЛ (продолжительность наблюдения – 3 мин): 1 – контроль, 2 – фитокомпозиция; * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем, точный критерий Фишера; *Du.dip.* – доля мышей в группе, у которых число свешиваний с открытых рукавов превышало 1

Fig. 2. The effect of the «Patrinia» phytocomposition (3.6 mg/kg in terms of oleanolic acid) on the behavior of ICR mice with moderate and high levels of zoosocial activity in EPM when observed for 3 minutes: 1 – control, 2 – phytocomposition; * – $p < 0.05$ versus control, Fisher's exact test; *Du.dip.* – proportion of mice in the group in which the number of hanging from open arms exceeded 1

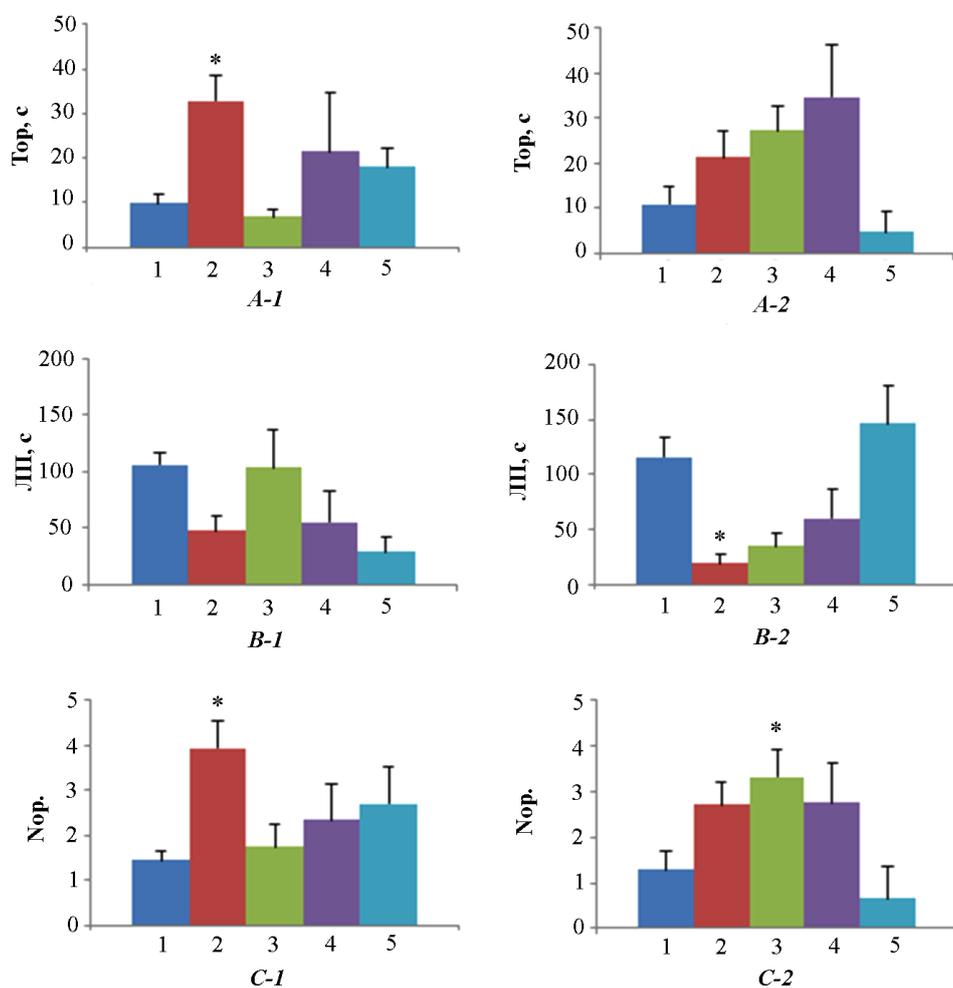


Рис. 3. Влияние ЛРС и олеаноловой кислоты на поведение активных (1) и тимидных (2) мышей ICR в ПКЛ (продолжительность наблюдения – 3 мин): 1 – контроль; 2 – ЛРС (1,7 мг/кг в пересчете на олеаноловую кислоту); 3 – ОК (5 мг/кг); 4 – ОК (10 мг/кг); 5 – ОК (20 мг/кг); * – различия статистически значимы по сравнению с контролем, $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна; *A, Top.* – продолжительность пребывания в открытых рукавах; *B, ЛП* – латентный период первого захода в открытый рукав; *C, Nor.* – число заходов в открытые рукава

Fig. 3. The effect of MPR and oleanolic acid on the behavior of active (1) and thymide (2) ICR mice in EPM during 3 minutes observation: 1 – control; 2 – MPR (1.7 mg / kg in terms of oleanolic acid); 3 – OA (5 mg/kg); 4 – OA (10 mg/kg); 5 – OA (20 mg/kg); * – the differences are statistically significant compared to the control, $p < 0.05$, Kruskal–Wallis test followed by data processing by the method of a posteriori comparisons using Dunn's test; *A, Top.* – length of stay in open arms; *B, ЛП* – latency period of the first entry into the open arms; *C, Nor.* – number of entries into open arms

вание фризинг-реакции из спектра поведенческих реакций особей с пассивным фенотипом реакции на стресс.

При применении ЛРС продолжительность пребывания на центральной площадке мышей с активным типом поведения (но не «тимидных» особей) увеличивалась в 1,7 раза ($p < 0,05$ в сравнении с контролем), что свидетельствует об отсрочивании захода в «безопасный» закрытый рукав животных, наиболее чувствительных к анксиолитическим эффектам патринии. Несущественное повышение относительно контроля числа горизонтальных перемещений как у активных, так и у «тимидных» животных, получавших сырье патринии, позволила исключить наличие седативного действия у ЛРС.

Для уточнения динамики влияния ЛРС (в/ж), ОК (в/ж) и таблеток «Валериана-Белмед» (в/ж) на поведение мышей осуществляли поминутный анализ в течение 3 мин (табл. 2, 3).

Таблица 2. Влияние ЛРС, ОК и «Валерианы-Белмед» на поведение активных и «тимидных» мышей ICR в ПКЛ в условиях ежеминутной регистрации по критериям, характеризующим анксиолитическую активность

Table 2. Influence of MPR, OA and “Valeriana-Belmed” on the behavior of active and thymid ICR mice in EPM under the conditions of every minute registration according to the criteria characterizing anxiolytic activity

Группа, доза	Активные животные			«Тимидные» животные		
	1 мин	2 мин	3 мин	1 мин	2 мин	3 мин
<i>Top.</i>						
Контроль ($n = 61$)	7,1 ± 1,5	4,0 ± 1,9	4,9 ± 2,0	5,1 ± 2,5	3,8 ± 1,8	1,9 ± 1,5
ЛРС, 1,7 ⁰ ($n = 26$)	12,7 ± 2,4*	12,1 ± 2,8*	8,1 ± 2,3*	12,1 ± 3,5	9,1 ± 4,9	0,0 ± 0,0
ОК, 5,0 мг/кг ($n = 10$)	0,5 ± 0,5	1,8 ± 1,8	4,5 ± 1,8	12,3 ± 4,5	8,8 ± 2,2	6,2 ± 4,0
ОК, 10,0 мг/кг ($n = 10$)	12,0 ± 7,4	8,0 ± 5,4	1,5 ± 1,0	12,3 ± 5,7	4,8 ± 2,8	17,8 ± 11,0
ОК, 20,0 мг/кг ($n = 10$)	7,0 ± 2,6	5,6 ± 1,9	5,4 ± 3,0	0,0 ± 0,0	2,0 ± 2,0	2,7 ± 2,7
«Валериана-Белмед», 30,0 мг/кг ($n = 10$)	6,0 ± 3,4	3,5 ± 1,7	3,1 ± 1,3	0,0 ± 0,0	3,0 ± 3,0	2,5 ± 2,5
<i>Nop.</i>						
Контроль ($n = 61$)	0,9 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,2
ЛРС, 1,7 ⁰ ($n = 26$)	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,3*	1,2 ± 0,4	1,6 ± 0,4	1,1 ± 0,4	0,0 ± 0,0
ОК, 5,0 мг/кг ($n = 10$)	0,3 ± 0,3	0,5 ± 0,5	1,0 ± 0,4	1,3 ± 0,3	1,5 ± 0,4 [#]	0,5 ± 0,2
ОК, 10,0 мг/кг ($n = 10$)	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,3 ± 0,2	1,5 ± 0,5	0,5 ± 0,3	0,8 ± 0,5
ОК, 20,0 мг/кг ($n = 10$)	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,6	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,3
«Валериана-Белмед», 30,0 мг/кг ($n = 10$)	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,5	0,5 ± 0,5

Примечание. ⁰ – доза в пересчете на олеаноловую кислоту; *Top.* – продолжительность пребывания в открытых рукавах; *Tcentr.* – продолжительность пребывания на центральной площадке, *Nop.* – число заходов в открытые рукава, *Ncl.* – число заходов в закрытые рукава; * – ЛРС (1,7 мг/кг суммы сапонинов в пересчете на ОК, в/ж); # – ОК (5,0 мг/кг, в/ж); представлены данные, для которых установлены статистически значимые различия по сравнению с контролем, $p < 0,05$ – критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна, n = число животных. То же для табл. 3.

Эффекты ЛРС в отношении критериев *Ncl.* ($p < 0,05$, табл. 3) и *Nop.* ($p > 0,05$; табл. 2) у «тимидных» мышей хорошо соотносимы с эффектами ОК у этой же когорты животных. Представленные данные могут быть расценены как указание на то, что действие патринии на мышей с пассивным фенотипом поведения обусловлено преимущественно содержанием патринозидов (табл. 2, 3).

Олеаноловая кислота не оказывала существенного влияния на поведенческие реакции мышей с активным типом реагирования в ПКЛ, в то время как ЛРС существенно снижало уровень ситуационной тревожности по показателям *Top.* и *Nop.* (табл. 2) и способствовало статистически значимому возрастанию *Tcentr.* (табл. 3). Предположительно, указанные биологические эффекты патринии средней обусловлены содержанием иных, нежели патринозиды, БАВ.

Таблица 3. Влияние ЛРС, ОК и «Валерианы-Белмед» на поведение активных и «тимидных» мышей ICR в ПКЛ в условиях ежеминутной регистрации по критериям, характеризующим двигательную активность

Table 3. Influence of MPR, OA and “Valeriana-Belmed” on the behavior of active and thymid ICR mice in EPM under the conditions of every minute registration according to the criteria characterizing locomotor activity

Группа, доза	Активные животные			«Тимидные» животные		
	1 мин	2 мин	3 мин	1 мин	2 мин	3 мин
<i>Tcentr.</i>						
Контроль (n = 61)	11,9 ± 1,7	3,0 ± 0,6	3,0 ± 0,6	12,5 ± 3,1	2,4 ± 1,1	3,1 ± 1,0
ЛРС, 1,7 ⁰ (n = 26)	15,1 ± 2,0	7,2 ± 1,1*	7,7 ± 1,5*	10,0 ± 2,0	4,3 ± 0,9	5,1 ± 2,3
ОК, 5,0 мг/кг (n = 10)	6,0 ± 3,1	3,3 ± 1,6	4,8 ± 1,4	10,8 ± 4,1	5,3 ± 0,8	5,5 ± 2,1
ОК, 10,0 мг/кг (n = 10)	10,8 ± 3,0	6,0 ± 2,2	2,5 ± 1,5	20,5 ± 6,8	4,3 ± 1,8	4,8 ± 1,5
ОК, 20,0 мг/кг (n = 10)	9,3 ± 3,8	7,7 ± 2,5	4,7 ± 1,0	7,0 ± 5,5	3,0 ± 3,0	2,7 ± 1,5
«Валериана-Белмед», 30,0 мг/кг (n = 10)	9,5 ± 3,2	5,4 ± 2,0	7,9 ± 2,3	6,5 ± 5,5	12,0 ± 12,0	1,5 ± 1,5
<i>Ncl.</i>						
Контроль (n = 61)	1,4 ± 0,1	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,7	0,8 ± 0,2
ЛРС, 1,7 ⁰ (n = 26)	1,9 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,3	2,0 ± 0,3*	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,4
ОК, 5,0 мг/кг (n = 10)	1,8 ± 0,5	1,3 ± 0,3	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,3 [#]	2,3 ± 0,2 [#]	1,5 ± 0,3
ОК, 10,0 мг/кг (n = 10)	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,9	1,5 ± 0,5	1,0 ± 0,4	2,0 ± 0,4
ОК, 20,0 мг/кг (n = 10)	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,3	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,3	1,0 ± 1,0	1,3 ± 0,9
«Валериана-Белмед», 30,0 мг/кг (n = 10)	1,4 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,5	0,5 ± 0,5	1,0 ± 1,0

Оценка влияния фитокомпозиции на базовую тревожность с использованием теста «кубик» (эксперимент 2). В тесте «кубик» не выявлено межгрупповых различий при сопоставлении поведения животных, получавших «Патринию», и особей, которым вводили растворитель, по показателям «латентный период первого касания кубика» ($125,6 \pm 36,3$ и $98,1 \pm 35,6$ с соответственно); «число касаний объекта» ($5,1 \pm 1,6$ с и $5,0 \pm 2,3$ с соответственно); «суммарная продолжительность исследования объекта» ($10,6 \pm 4,5$ и $9,6 \pm 5,1$ с соответственно). Это свидетельствует об отсутствии влияния фитопрепарата на уровень базовой тревожности лабораторных грызунов.

Заключение. В психофармакологических экспериментах изучены особенности анксиолитического действия ЛРС и фитокомпозиции на основе патринии средней в сравнении с другими образцами природного (таблетки валерианы) и синтетического (олеаноловая кислота) происхождения.

Установлено, что ЛРС патринии средней и фитокомпозиция «Патриния» снижали ситуационную тревожность у социально активных мышей-самцов ICR. Патриния (1,7 и 3,6 мг/кг суммы сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту) превосходила синтетический образец (ОК, 5,0–20,0 мг/кг) по уровню активных доз и спектру анксиолитической активности и имела явное преимущество по выраженности противотревожного эффекта по сравнению с валерианой. Фитопрепарат «Патриния» не был активен в отношении генетически обусловленной патологически повышенной базовой тревожности мышей линии BALB/c.

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела фармакологии и фармации И. В. Жебраковой, А. В. Малайко, Л. М. Залашко, Л. П. Губиной, З. И. Крупской (Институт биоорганической химии НАН Беларуси) и кандидатам биологических наук Л. В. Кухаревой и Б. В. Аношенко (Центральный ботанический сад НАН Беларуси) за содействие в организации и проведении экспериментов.

Aknowledgements. The authors are grateful to the staff of the Department of Pharmacology and Pharmacy I. V. Zhebrakova, A. V. Malyavko, L. M. Zalashko, L. P. Gubina, Z. I. Krupskaya (Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus) and candidates of biological sciences L. V. Kukhareva and B. V. Anoshenko (Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus) for assistance in organizing and conducting experiments.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Сюняков, Т. С. Клинико-фармакологическая характеристика анксиолитического действия нового пептидного препарата Селанк : автореф. ... дис. мед. наук: 14.03.06 ; 14.01.06 / Т. С. Сюняков ; Рос. акад. мед. наук. – М., 2011. – 23 с.
2. Определение качественного состава тритерпеновых гликозидов лекарственного растительного сырья *Patrinia intermedia* белорусской интродукции и их суммарного содержания / Д. И. Демид [и др.] // Белорусские лекарства : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Минск, 27–28 ноября 2014 г.) / НАН Беларуси, Ин-т биоорг. химии НАН Беларуси. – Минск, 2014. – С. 57–61.
3. Опыт интродукции патринии средней (*Patrinia intermedia*) в Беларуси / В. В. Титок [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2013. – № 4. – С. 19–23.
4. Результаты клинического изучения селективного анксиолитика Афобазола / С. А. Сюняков [и др.] // Эксп. и клин. фармакол. – 2001. – Т. 64, № 2. – С. 15–19.
5. ТУ BY 100185129.131-2014. Добавка биологически активная к пище «Патриния» ; введ. 12.08.2014 до 12.08.2019. – 20 с.
6. Особенности влияния патринии средней корневищ с корнями и таблеток «Валериана-Белмед» на поведение мышей в приподнятом крестообразном лабиринте / О. Н. Саванец [и др.] // Белорусские лекарства : материалы междунар. науч.-практ. конф. (Минск, 10–11 окт. 2019 г.) / редкол. : А. Н. Вараскин [и др.]. – Минск, 2019. – С. 132–135.
7. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств / Т. А. Воронина [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / отв. ред. А. Н. Миронов. – М., 2012. – Ч. 1. – С. 264–275.
8. Вишневская, Г. Б. Устойчивость мышей линии DBA/2J к воздействию хронического стресса социальных поражений / Г. Б. Вишневская, Д. Ф. Августинович, Н. Н. Кудрявцева // Журн. высш. нерв. деятельности. – 2016. – Т. 66, № 3. – С. 338–351.
9. Санитарные правила и нормы 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (vivariums)». – Введ. 02.01.07. – Минск, 2006. – 21 с.
10. Саванец, О. Н. Изучение психофармакологической активности и возможного побочного действия фитоконпозиции на основе *Patrinia intermedia* / О. Н. Саванец // Молодые ученые и фармация XXI века : сб. науч. тр. VI междунар. науч. конф. (Москва, 5–6 декабря 2018 г.) / ред. совет : М. К. Сидельникова [и др.]. – М., 2018. – С. 277–283.
11. Максимова, Л. В. Влияние генетически обусловленного уровня тревожности на неассоциативное обучение животных / Л. В. Максимова // Вестн. БГУ. Сер. 2: Химия. Биология. География. – 2008 – № 3. – С. 54–58.

References

1. Syunyakov T. S. *Clinical and pharmacological characteristics of the anxiolytic action of the new peptide drug Selank*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2001. 23 p. (in Russian).
2. Demid D. I., Shabunya P. S., Fatykhova S. A., Kurman P. V., Petrov P. T. Determination of the qualitative composition of triterpene glycosides medicinal plants *Patrinia intermedia* belarusian introduction and their total of contents. *Belorusskie lekarstva: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 27–28 noyabrya 2014 goda)* [Belarusian medicines: materials of the International scientific and practical conference (Minsk, November 27–28, 2014)]. Minsk, 2014, pp. 57–61 (in Russian).
3. Titok V. V., Kukhareva L. V., Savich I. M., Tychina I. N., Gavrilenko T. K. The experience of introduction of *Patrinia intermedia* in Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2013, no. 4, pp. 19–11 (in Russian).
4. Syunyakov S. A., Chumakov D. V., Bochkarev V. K., Boyarshinova T. N., Neznamov G. G. Results of a clinical study of the selective anxiolytic Afobazol. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and clinical pharmacology], 2001, vol. 64, no. 2, pp. 15–19 (in Russian).
5. TU BY 100185129.131-2014. *Specifications BY 100185129.131-2014. Biologically active food additive «Patrinia»*. Minsk, 2014. 20 p. (in Russian).
6. Savanec O. N., Malyavko A. V., Kravchenko E. V., Zalashko L. M., Kuhareva L. V., Nasek V. M., Zhebrakova I. V., Petrov P. T. Features of the influence of patinia of medium rhizomes with roots and tablets “Valeriana-Belmed” on the behavior of mice in an elevated cruciform maze. *Belorusskie lekarstva: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi Konferentsii (Minsk, 10–11 oktyabrya 2019 goda)* [Belarusian medicines: materials of the International scientific and practical conference (Minsk, October 10–11, 2019)]. Minsk, 2019, pp. 132–135 (in Russian).
7. Voronina T. A., Seredenin S. B., Yarkova M. A., Voronin M. V. Methodical recommendations for the preclinical study of the tranquilizing (anxiolytic) action of drugs. *Guidelines for Conducting Preclinical Trials of Medicines*. Moscow, 2012, pp. 264–275 (in Russian).
8. Vishnivetskaya G. B., Avgustinovich D. F., Kudryavtseva N. N. Resistance of DBA / 2J mice to the effects of chronic stress of social damage. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatel'nosti imeni I. P. Pavlova* [Journal of higher nervous activity named after I. P. Pavlova], 2016, vol. 66, no. 3, pp. 338–351 (in Russian).
9. *Sanitary rules and regulations “Arrangement, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums)”*. Minsk, 2006. 21 p. (in Russian).

10. Savanets O. N. Study of psychopharmacological activity and possible side effects of phytocomposition based on *Patrinia intermedia*. *Molodye uchenye i farmatsiya XXI veka: sbornik nauchnykh trudov VI Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Moskva, 5–6 dekabrya 2018 goda)* [Young scientists and pharmacy of the XXI century: collection of scientific papers of the VI International scientific conference (Moscow, December 5–6, 2018)]. Moscow, 2018, pp. 277–283 (in Russian).

11. Maksimova L. V. The effect of genetically determined levels of anxiety on non-associative learning in animals. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Geografiya = Bulletin of the Belarusian State University. Series 2: Chemistry. Biology. Geography*, 2008, no. 3, pp. 54–58 (in Russian).

Информация об авторах

Саванец Оксана Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oksana.savanez.96@mail.ru

Кравченко Елена Валериевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kravchenko@iboch.by

Петров Петр Тимофеевич – канд. хим. наук; заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: petr_petrov@tut.by

Information about the authors

Oksana N. Savanets – Junior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oksana.savanez.96@mail.ru

Elena V. Kravchenko – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kravchenko@iboch.by

Petr T. Petrov – Ph. D. (Chem.), Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Academician Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: petr_petrov@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.5; 504.6:656; 504.6:654; 502.4; 502.7(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-107-121>

Паступіў у рэдакцыю 21.07.2020

Received 21.07.2020

І. М. Сцепановіч, А. У. Суднік

Інстытут эксперыментальнай батанікі імя В. Ф. Купрэвіча НАН Беларусі, Мінск, Рэспубліка Беларусь

СУЧАСНЫЯ СТРУКТУРА І СТАН РАСЛІННАСЦІ ЎЗДОЎЖ ТРАС ПРАДУКТАПРАВОДАЎ І ЛІНІЙ ЭЛЕКТРАПЕРАДАЧЫ

Анотацыя. Праведзены аналіз структуры і стану расліннасці ўздоўж трас нафта-, газа-, іншых прадуктаправодаў і ліній электраперадачы (ЛЭП). Экалага-геабатанічны даследаванні структуры і стану расліннасці праводзілі з выкарыстаннем метаду экалага-фітацэнатычных профіляў, або трансект. Усяго закладзена 72 трансекты з 450 пробнымі пляцоўкамі. Устаноўлена, што будаўніцтва і ўтрыманне трас прадуктаправодаў і ЛЭП з'яўляецца катастрофічным фактарам для расліннага покрыва ў цэлым і функцыянавання прыродных экасістэм, перш за ўсё лясных. Лугавыя экасістэмы адрозніваюцца меншай трансфармацыяй фітацэнозаў (асабліва пад ЛЭП) і больш хуткай аднаўленчай сукцэсіяй за кошт генафонду мясцовых траў. Адзначаны наступныя заканамернасці ў сінантрапізацыі раслінных супольніцтваў ва ўсіх экасістэмах, дзе пракладзены трасы прадуктаправодаў і ЛЭП: найбольшая канцэнтрацыя сінантропаў, у тым ліку інвазійных адвентаў, на адкрытай прасторы трасы (па цэнтры) і рэзкае іх змяншэнне з аддаленнем ад яе. Уздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП пануюць травяністыя расліны, а пры недастатковым доглядзе ўсе часцей сустракаюцца дрэвы і хмызнікі. Пры адсутнасці касьбы і ўзворвання развіццё дрэвава-хмызняковай расліннасці суправаджаецца буйнатраўем. Трасы прадуктаправодаў і ЛЭП – палігон і міграцыйныя рэчышчы для сеgetалаў-эксплерэнтаў, экспансійных рудэралаў і інвазійных відаў раслін (усяго тут выяўлена 90 інвазій). У той жа час пры прыняцці належных мер догляду за ўгоддзямі (рэгулярная касьба, высечка падросту і хмызнякоў, несцельнае ўзворванне) існуюць спрыяльныя ўмовы для развіцця травяных супольніцтваў, уключаючы рэдкія і ўнікальныя, уздоўж гэтых трас. Стан і перспектывы развіцця расліннасці ўздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП знаходзяцца ў прамой залежнасці ад якасці абслугоўвання трас, уключаючы выкарчоўку і ўзворванне зябліва.

Ключавыя словы: антрапагеннае ўздзеянне, расліннасць уздоўж трас прадуктаправодаў і ліній электраперадачы, біялагічная разнастайнасць, сінантропны кампанент флоры, інвазійныя расліны, экалогія, Беларусь

Для цытавання: Сцепановіч, І. М. Сучасныя структура і стан расліннасці ўздоўж трас прадуктаправодаў і ліній электраперадачы / І. М. Сцепановіч, А. У. Суднік // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 107–121. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-107-121>

Iosiph M. Stepanovich, Aliaksandr V. Sudnik

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

MODERN STRUCTURE AND STATE OF VEGETATION ON THE ROUTES OF PIPELINE AND ELECTRIC TRANSMISSION LINES

Abstract. Ecological-floristic and phytocenotic analysis of vegetation on routes of oil-, gas-and otherproductpipelines and electric transmission lines was carried out. Ecological and geobotanical research of the structure and state of vegetation was carried out with the use of the method of ecological-phytocenotic profiles or transects. A total 72 transects with 450 sample plots were placed. It was found out that building and maintenance of pipelines and electric transmission lines is a catastrophic factor for the vegetation cover in general and for functioning of natural ecosystems, especially forest ecosystems. Meadow ecosystems are characterized by a lesser transformation of phytocenoses (especially under electric transmission lines) and by the fastest demutation succession due to the genefond of local herbs. The regularity of synanthropization of plant communities in all ecosystems with routes of pipelines and electric transmission lines was noted: the concentration of synanthropes, including invasive advents, is the greatest on the open space of the routes (in the center) and decreases sharply with distance from it. Grassy plants dominate along pipelines and electric transmission lines, while trees and shrubs get activated in case of insufficient care. In the absence of mowing and plowing the development of trees and shrubs is accompanied by an abundance of large grasses. Routes of pipelines and electric transmission lines are polygones and migration channels for segetals-explereants, expansion ruderals and invasive plant species. On these routes 90 invasions were revealed. At the same time there are the best opportunities for the development of grass communities on these routes, including rare and unique communities, subject to appropriate measures for the care of these areas (not continuous plowing, regular mowing, cutting of undergrowth and shrubs). The state and prospects of development of vegetation on routes of pipelines and electric transmission lines are directly dependent on the quality of their servicing, including uprooting and plowing.

Keywords: anthropogenic impact, vegetation of pipeline routes and electric transmission lines, biodiversity, synanthropic component of flora, invasive plants, ecology, Belarus

For citation: Stepanovich I. M., Sudnik A. V. Modern structure and state of vegetation on the routes of pipeline and electric transmission lines. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya byalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 107–121 (in Belarusian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-107-121>

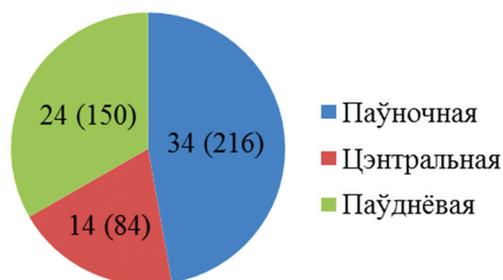
Уводзіны. Нафта-, газа-, іншыя прадуктаправоды і лініі электраперадачы (ЛЭП) – асаблівыя і маштабныя камунікацыйныя збудаванні для транспартавання вадкіх і газападобных рэчываў (па трубах) і электрычнай энергіі (па правадах). Агульная працягласць магістральных газаводаў на тэрыторыі Беларусі – 7950 км, нафтаводаў – 3615 км, прадуктаводаў – 2385 км, ЛЭП – 279,278 тыс. км, у тым ліку высакавольтных ліній (ВЛ) напружаннем 35–750 кВ – 36,846 тыс. км, ВЛ напружаннем 0,4–10 кВ – 202,632 тыс. км, кабельных ЛЭП – 39,923 тыс. км. Іх будаўніцтва і эксплуатацыя нясуць значныя негатыўныя наступствы для навакольнага асяроддзя: знішчаюцца прыродная расліннасць і біятопы, што прыводзіць да скарачэння найперш лясных супольніцтваў, знікнення рэдкіх і ахоўных відаў раслін і жывёл; парушаецца цэласнасць экасістэм; змяняюцца рэжымы асяроддзя на прылягаючых да трас плошчах; ствараюцца спрыяльныя ўмовы для распаўсюджвання пустазельных, а таксама шкодных чужародных (інвазійных) відаў. У канцэптуальнай схеме ўздзеяння магістральных трубаводаў на стан прыродных экасістэм вылучаюцца тры асноўныя зоны: 1 – зона поўнага механічнага знішчэння расліннасці; 2 – зона частковага механічнага знішчэння расліннасці; 3 – буферная зона, якая характарызуецца нязначнай трансфармацыяй расліннага покрыва на працягласці ад 50 да 200 м уздоўж прадуктаводаў.

У нашай краіне і за мяжой да цяперашняга часу ацэнка экалагічных наступстваў і шкоды навакольнаму асяроддзю нафта-, газа- і прадуктаводаў праводзілася толькі ў выпадках аварый на іх. Экалагічныя рызыкі, звязаныя з іх функцыянаваннем, ацэньваліся зыходзячы з магчымасці ўзнікнення аварыйных сітуацый і забруджвання навакольнага асяроддзя прадуктамі, якія транспартуюцца па трубах. Сістэмных геабатанічных і маніторынгавых даследаванняў расліннасці ўздоўж трас прадуктаводаў і ЛЭП у Беларусі навогул не праводзілася. Аднак вядома, што расліннасць з'яўляецца найлепшым індыкатарам стану навакольнага асяроддзя, у тым ліку ўплыву дадзеных транспартных камунікацый. Таму актуальнасць даследаванняў структуры і стану расліннасці ва ўмовах антрапагеннага ўздзеяння відавочная.

Мэта нашых даследаванняў – ацаніць стан прыродна-раслінных комплексаў пад уздзеяннем будаўніцтва і ўтрымання транспартных камунікацый (ЛЭП і прадуктаводаў) і асаблівасці іх фарміравання.

Аб'екты і метады даследавання. Аб'ектамі даследаванняў з'яўляліся ўсе катэгорыі расліннага покрыва, якія сустракаюцца ўздоўж трас нафта-, газа-, іншых прадуктаводаў і ЛЭП. Маршрутна-дэталёвыя і стацыянарныя (маніторынгавыя) экалага-геабатанічныя даследаванні расліннасці праведзены метадам трансект (Тр). Усяго па краіне закладзена 72 Тр з 450 пробнымі пляцоўкамі (ПП). Іх размеркаванне па геабатанічных падзонах прыведзена на мал. 1.

ПП на Тр закладваліся ў такой паслядоўнасці: ПП-1 (эталон-1) – у 50 м ад аднаго краю прасекі, ПП-2 (экатон-1) – у 10 м ад гэтага краю, ПП-3 (край-1) – у 10 м ад краю прасекі, ПП-4 (цэнтр) – праз 20–50 м у цэнтры прасекі, ПП-5 (край-2) – у 10 м ад супрацьлеглага краю прасекі, ПП-6 (экатон-2) – у 10 м ад гэтага краю прасекі, ПП-7 (эталон-2) – у 50 м ад краю прасекі. Як правіла, на Тр 7 ПП. Праз больш шырокія прасекі, напрыклад пры наяўнасці паралельна 2–3 ЛЭП або значнай фітацэнаразнастайнасці, колькасць прамежавых ПП павялічваецца, а пры звужэнні прасекі, наадварот, – памяншаецца.



Мал. 1. Размеркаванне трансектаў і пробных пляцовак (у дужках) па геабатанічных падзонах Беларусі

Fig. 1. Distribution of transects and test sites (in brackets) by geobotanical subzones of Belarus

Стан расліннасці і ўмовы яе развіцця даследавалі з дапамогай класічных і нестандартных экалага-геабатанічных метадаў [1–8]. Для вызначэння сасудзістых раслін выкарыстоўвалі шэраг дапаможнікаў [9–13], імхоў [14, 15], лішайнікаў [16]. Прыналежнасць супольніцтваў да канкрэтных сінтаксонаў вызначалі як з дапамогай паслядоўнай таблічнай апрацоўкі метадам Й. Браўн-Бланке [17], так і шляхам аналогій паводле распрацаваных сістэм [18–21], іх сінфітасазалагічны статус – па папярэднім спісе [7, 22].

Сінантрапізацыю ацэньвалі з улікам колькасці занесеных відаў і іх покрыўнасці (багатаснасці ў фітацэнозе), выкарыстоўваючы дапаможнік карэльскіх даследнікаў у якасці прыкладу [23]. Пры аналізе сінантропнага кампаненту ацэньвалі наступныя паказчыкі: 1) індэкс сінантрапізацыі або сінантропнасці (Is) – адносную колькасць сінантропных відаў (раслін, прышлых у выніку прамога ці ўскоснага дзеяння чалавека) да агульнай колькасці відаў у фітацэнозе; 2) індэкс апафітызацыі або апафітнасці (Iap) – адносную колькасць апафітаў (раслін з мясцовай флары, але не характэрных, прышлых у выніку дзейнасці чалавека) да агульнай колькасці сінантропных відаў; 3) індэкс адвентызацыі або адвенцыйнасці (Iad) – адносную колькасць адвентаў (чужародных раслін з аддаленых рэгіёнаў, прышлых у выніку дзейнасці чалавека) да агульнай колькасці сінантропных відаў. Такі інтэграваны паказчык, як ступень сінантрапізацыі, вызначалі ў працэнтах ад суадноснай сумарнай праекцыйнай покрыўнасці сінантропных раслін да агульнай сумарнай покрыўнасці ўсіх вышэйшых сасудзістых відаў, зафіксаваных у геабатанічным апісанні супольніцтва.

Вынікі і іх абмеркаванне. Закладзеныя Тр прэзентуюць як прыродныя (лясныя, лугавыя, балотныя, водныя), так і антрапагенныя экасістэмы – аграэкасістэмы (палі і лугавыя аграцэнозы, у тым ліку на асушаных землях). Больш за ўсё ўплыў транспартных камунікацый праяўляецца ў лясных экасістэмах. Разгледзім гэта на прыкладзе супольніцтва з дамінаваннем такога магутнага эдыфікатара, як елка еўрапейская (*Picea abies* (L.) Karst.).

Як бачна з геабатанічных апісанняў (табл. 1–4), чым бліжэй да цэнтра транспартнай камунікацыі, у прыватнасці да трасы ЛЭП, тым большыя сінантропныя змены назіраюцца ў фларыстычным складзе раслінных супольніцтваў.

Табліца 1. Экалага-фларыстычная характарыстыка ялова-хваёвага супольніцтва на ПП-1 трансекты 66 «Доўгае». Эталон-1

Table 1. Ecological and floral characteristics of the spruce-pine community on PP-1 of transect 66 “Douhaje”. Standard-1

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
Дрэвы:	I	24,0–15,0			80		
<i>Pinus sylvestris</i>			пл	4	50	Cop ₂	
<i>Picea abies</i>			пл	4	30	Cop ₁	
<i>Populus tremula</i>			вег	4	1	Sol	
<i>Betula pendula</i>			вег	4	1	Sol	
Падрост:	II	6,5–0,3			15		
<i>Picea abies</i>			вег	3	10 (15)	Sp	
<i>Populus tremula</i>			вег	3	5	Sp	
Падлесак (хмызнякі):	II	4,5–0,3			5		
<i>Corylus avellana</i>			вег	4	3	Sol	
<i>Sorbus aucuparia</i>			пл	4	1	Sol	
<i>Frangula alnus</i>			вег	4	1	Sol	
Жывое наглебавае покрыва: паўхмызнякі, хмызнячкі і травы:	III	1,2–0,1			75		
<i>Rubus idaeus</i>			вег	3	5	Sp	аб/ап
<i>Lysimachia vulgaris</i>			пл	4	1	Sol	
<i>Dryopteris carthusiana</i>			сп	4	1	Sol	
<i>Vaccinium myrtillus</i>			пл	4	20	Sp	
<i>Carex sylvatica</i>	пл	4	2	Sol			

Заканчэнне табл. 1

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёваць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
<i>Luzula pilosa</i>	IV	0,05–0,03	пл	4	7	Sp	
<i>Oxalis acetosella</i>			вег	4	45	Cop ₂	
імхі:					80		
<i>Pleurozium schreberi</i>			вег	4	60	Cop ₃	
<i>Hylacomium splendens</i>			вег	4	20	Cop ₁	
Буралом і ламачча				20			
Індэкс сінантрапізацыі (Is)							0,07
Індэкс апафітызацыі (Iap)							1,00
Індэкс адвентызацыі (Iad)							0,00
Ступень сінантрапізацыі, %							0,55

З а ў в а г і. GPS-каардынаты супольніцтва: N 54°28'39,7"; E 0 26°43'32,5"; глеба дзірванова-папяліста-глеяватая, сярэднепапялістая, рыхлапяская, узровень грунтовай вады (УГВ) – ніжэй за 1,2 м.

Тут і ў табл. 2–4, 6: 1. Лацінскія назвы сасудзістых раслін дадзены па С. К. Чарапанаву [24], імхоў – па М. С. Ігнату і інш. [25], лішайнікаў – па Ж. Пельту [26].

2. Багатаснасць відаў вызначана па ўдасканаленай шкале О. Друдэ: Un (unicum) – расліны прадстаўлены адной асобінай; Rg (rari) – расліны сустракаюцца адзінкава; Sol (solitariae) – расліны сустракаюцца рэдка; Sp (sparsae) – расліны сустракаюцца ў невялікай колькасці, расцярушана; Cop₁₋₃ (copiosae) – расліны прадстаўлены ў вялікай колькасці асобін; Soc (sociales) – расліны ўтвараюць фон, наземныя часткі іх змыкаюцца.

3. У графе «Праекцыйная покрыўнасць» у дужках указана покрыўнасць сухастану.

4. Сінантропны кампанент флоры: аб/ап – абарыгенны (аўтахтонны)/апафітны; адв – адвентычны (прышлы), разлічваўся для вышэйшых сасудзістых раслін.

Табліца 2. Экалага-фларыстычная характарыстыка ялова-хваёвага супольніцтва на ПП-2 Тр-66 «Доўгае». Экатон-1

Table 2. Ecological and floral characteristics of the spruce-pine community on PP-2 of transect 66 “Douhaje”. Ecoton-1

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёваць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент		
Дрэвы:	I	24,0–15,0			70				
<i>Picea abies</i>			пл	4	45	Cop ₂			
<i>Pinus sylvestris</i>			пл	4	30	Cop ₁			
<i>Betula pendula</i>			вег	4	0,5	Sol			
Падрост:	II	6,5–0,3			12				
<i>Picea abies</i>			вег	3	12 (5)	Sp			
<i>Quercus robur</i>			вег	4	0,3	Rr			
Падлесак (хмызнякі):	II	4,5–0,3			1				
<i>Sorbus aucuparia</i>			пл	4	1	Sol			
Жывое наглебавае покрыва: хмызнячкі і травы:	III	1,2–0,1			75				
<i>Molinia caerulea</i>			пл	3	1	Sol			
<i>Lysimachia vulgaris</i>			пл	3	1	Sol	аб/ап		
<i>Juncus effusus</i>			пл	3	3	Sol	аб/ап		
<i>Hieracium umbellatum</i>			пл	4	0,5	Sol	аб/ап		
<i>Dryopteris carthusiana</i>			сп	4	1	Sol			
<i>Vaccinium myrtillus</i>			пл	4	30	Cop ₁			
<i>Veronica officinalis</i>			пл	4	1	Sol			
<i>Luzula pilosa</i>			пл	4	7	Sp			
<i>Oxalis acetosella</i>			вег	4	3	Sol			
імхі:			IV	0,05–0,03			80		
<i>Pleurozium schreberi</i>					вег	4	60	Cop ₃	
<i>Hylacomium splendens</i>					вег	4	20	Cop ₁	
Буралом і ламачча								10	

Заканчэнне табл. 2

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
Індэкс сінантрапізацыі (Is)							0,21
Індэкс апафітызацыі (Iap)							1,00
Індэкс адвентызацыі (Iad)							0,00
Ступень сінантрапізацыі, %							3,73

3 а ў в а г а. GPS-каардынаты супольніцтва: N 54°28'40,4"; E 0 26°43'33,4"; глеба дзірванова-папяліста-глеяватая, сярэднепапялістая, рыхлапясчаная, УГВ – ніжэй за 1,0 м.

Так, на ПП-1 (табл. 1), што ў 50 м ад краю прасекі, лясное супольніцтва цалкам натуральнае. Некаторае зніжэнне жыццёўстойлівасці елкі еўрапейскай звязана з паніжэннем грунтавых вод і распаўсюджаннем караеда тыпографа. Дэфіцыт глебавай вільгаці адчувае на сабе перш за ўсё яловы падрост. Покрыўнасць падраставага сухастою складае 15 %. Прысутнасць у супольніцтве сінантропных відаў, або антрапафітаў, мінімальнае – ступень сінантрапізацыі 0,55 %. Сінантропны комплекс прадстаўлены адным відам – апафітам лазаніцай звычайнай (*Lysimachia vulgaris* L.) з суседняй нізіннабалотнай экасістэмы. Індэкс сінантрапізацыі роўны 0,07, індэкс апафітызацыі – 1,00, індэкс адвентызацыі – 0,00.

На ПП-2 (табл. 2) хваёва-яловае супольніцтва мае экатонны характар. Тут у жывым наглебавым покрыве прыкметней наяўнасць геліяфітаў, якія прадстаўлены трыма тыповымі для нізінна-лугавых і ўзлескавых супольніцтваў абарыгеннымі апафітамі: лазаніцай звычайнай, сітом разгалістым (*Juncus effusus* L.) і ястрабком парасоністым (*Hieracium umbellatum* L.). Паказчыкі сінантрапізацыі расліннага покрыва крыху большыя: індэкс сінантрапізацыі роўны 0,21, індэкс апафітызацыі – 1,00, індэкс адвентызацыі – 0,00, ступень сінантрапізацыі – 3,73 %. Узровень сінантрапізацыі нізкі.

Зусім іншая сітуацыя на трасе высакавольтнай ЛЭП. Тут пануюць травяністыя расліны, а пры недастатковым доглядзе за станам трасы актывізуюцца хмызнякі і падрост (табл. 3, 4).

Табліца 3. Экалага-фларыстычная характарыстыка супольніцтва *Juncetum effusi* (Pauca, 1941) Sob, 1947 на ПП-3 Тр-66 «Доўгае». Край-1

Table 3. Ecological and floral characteristics of the community *Juncetum effusi* (Pauca, 1941) Sob, 1947 on PP-3 transect 66 “Douhaje”. Edge-1

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
Падрост:	II	3,0–0,2			22		
<i>Alnus glutinosa</i>			вэг	4	20	Sp	
<i>Picea abies</i>			вэг	4	1	Sol	
<i>Pinus sylvestris</i>			вэг	4	1	Sol	
Падлесак (хмызнякі):	II	2,5–0,3			24		
<i>Salix caprea</i>			вэг	4	20	Sp	
<i>Salix cinerea</i>			вэг	4	3	Sol	
<i>Frangula alnus</i>			вэг	4	1	Sol	
Жывое наглебавае покрыва (травы):	III	1,5–0,1			90		
<i>Angelica sylvestris</i>			пл	4	4	Sol	
<i>Schedonorus pratensis</i>			пл	5	5	Sp	аб/ап
<i>Solidago canadensis</i>			пл	4	2	Sol	адв(інв)
<i>Phalacrolooma septentrionale</i>			пл	5	1	Sol	адв(інв)
<i>Rumex crispus</i>			пл	4	0,1	Rr	аб/ап
<i>Epilobium hirsutum</i>			пл	4	1	Sol	аб/ап
<i>Deschampsia cespitosa</i>			пл	4	3	Sol	аб/ап
<i>Juncus effusus</i>			пл	4	30	Cop ₁	аб/ап
<i>Hieracium umbellatum</i>			пл	4	5	Sp	аб/ап
<i>Lysimachia vulgaris</i>			пл	4	1	Sol	аб/ап
<i>Agrostis gigantea</i>			пл	4	10	Sp	аб/ап
<i>Epilobium palustre</i>			пл	4	5	Sp	аб/ап

Заканчэнне табл. 3

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
<i>Agrostis tenuis</i>			пл	3	8	Sp	аб/ап
<i>Luzula pilosa</i>			пл	4	2	Sol	
<i>Taraxacum officinale</i>			вег	3	2	Sol	аб/ап
<i>Ranunculus repens</i>			вег	3	15	Sp	аб/ап
<i>Tussilago fanfara</i>			вег	4	25	Cop ₁	аб/ап
<i>Fragaria vesca</i>			вег	3	5	Sp	
<i>Angelica sylvestris</i>			пл	4	4	Sol	
<i>Schedonorus pratensis</i>			пл	5	5	Sp	аб/ап
<i>Solidago canadensis</i>			пл	4	2	Sol	адв(інв)
<i>Phalacrolooma septentrionale</i>			пл	5	1	Sol	адв(інв)
<i>Rumex crispus</i>			пл	4	0,1	Rr	аб/ап
<i>Epilobium hirsutum</i>			пл	4	1	Sol	аб/ап
Індэкс сінантрапізацыі (Is)							0,63
Індэкс апафітызацыі (Iap)							0,87
Індэкс адвентызацыі (Iad)							0,13
Ступень сінантрапізацыі, %							66,5

З а ў в а г а. GPS-каардынаты супольніцтва: N 54°28'40,8"; E 0 26°43'32,0"; глеба дзірванова-папяліста-глеяватая, сярэднепапялістая, рыхлапясчаная, УГВ – ніжэй за 0,9 м.

Т а б л і ц а 4. Экалага-фларыстычная характарыстыка супольніцтва *Juncetum effusi* (Пауса, 1941) Соб, 1947 на ПП-4 Тр-66 «Доўгае». Цэнтр

Table 4. Ecological and floral characteristics of the community *Juncetum effusi* (Pausa, 1941) Sob, 1947 on PP-4 of transect 66 “Douhaje”. Center

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёвасць, балы	Праекцыйная покрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
Падрост:	II	2,0–0,8			20		
<i>Alnus glutinosa</i>			вег	4	20	Sp	
Падлесак (хмызнякі):	II	2,5–0,3			11		
<i>Salix caprea</i>			вег	4	10	Sp	
<i>Salix cinerea</i>			вег	4	1	Sol	
Жывое наглебавае покрыва: травы і паўхмызнякі:	III	1,3–0,1			95		
<i>Rubusidaeus</i>			вег	3	1	Sol	
<i>Phalaroides arundinacea</i>			тр	4	2	Sol	аб/ап
<i>Deschampsia cespitosa</i>			пл	4	8	Sp	аб/ап
<i>Juncus effusus</i>			пл	4	70	Cop ₃	аб/ап
<i>Carduus crispus</i>			пл	4	1	Sol	аб/ап
<i>Solidago canadensis</i>			пл	4	4	Sol	адв(інв)
<i>Phalacrolooma septentrionale</i>			пл	5	0,5	Sol	адв(інв)
<i>Cirsium arvense</i>			пл	4	2	Sol	аб/ап
<i>Epilobium palustre</i>			пл	4	5	Sp	аб/ап
<i>Myosoton aquaticum</i>			пл	4	10	Sp	аб/ап
<i>Agrostis tenuis</i>			пл	3	2	Sol	аб/ап
<i>Agrostis stolonifera</i>			пл	4	10	Sp	аб/ап
<i>Galium mollugo</i>			вег	3	1	Sol	аб/ап
<i>Taraxacum officinale</i>			вег	3	1	Sol	аб/ап
<i>Mentha arvensis</i>			пл	3	5	Sp	аб/ап
<i>Tussilago fanfara</i>			вег	4	25	Cop ₁	аб/ап
<i>Ranunculus repens</i>			вег	3	20	Sp	аб/ап
<i>Viola canina</i>			вег	3	1	Sol	аб/ап
<i>Rubusidaeus</i>			вег	3	1	Sol	
<i>Phalaroides arundinacea</i>			тр	4	2	Sol	аб/ап
<i>Deschampsia cespitosa</i>			пл	4	8	Sp	аб/ап

Заканчэнне табл. 4

Назва расліны	Ярус	Сярэдняя вышыня, м	Фенафаза	Жыццёваць, балы	Праекцыйная пакрыўнасць, %	Багатаснасць відаў	Сінантропны кампанент
<i>Juncus effusus</i>			пл	4	70	Сор ₃	аб/ап
<i>Carduus crispus</i>			пл	4	1	Sol	аб/ап
<i>Solidago canadensis</i>	IV	0,04–0,02	пл	4	4	Sol	адв(інв)
імхі: <i>Calliergonella cuspidata</i>			вег	3	10	Sp	
Індэкс сінантрапізацыі (Is)							0,81
Індэкс апафітызацыі (Iap)							0,88
Індэкс адвентызацыі (Iad)							0,12
Ступень сінантрапізацыі, %							83,9

З а ў в а г а. GPS-каардынаты супольніцтва: N 54°28'43,9"; E 0 26°43'32,6"; глеба дзірванова-папяліста-глеёвая, сярэднепапялістая, рыхлапясчаная, УГВ – ніжэй за 0,6 м.

На прасецы (ПП-3–ПП-5) фармуецца ацыдафільнае нізіннае травяное супольніцтва *Juncetum effusi* (Pauca, 1941) Soó, 1947. Узровень сінантрапізацыі высокі. У асноўным за кошт абарыгенных апафітаў ступень сінантрапізацыі расліннага пакрыва трасы дасягае 63,5–83,9 %. Усюды на прасецы сустракаюцца сумнік канадскі (*Solidago canadensis* L.) і танкалучнік паўночны (*Phalacrolooma septentrionale* (Fern. et Wieg.) Tzvel.). Праекцыйная пакрыўнасць сумніка да 10 %. Па лініі Тр сінантрапізацыя змяняецца вельмі істотна (табл. 5).

У межах краіны на трасах прадуктаправодаў і ЛЭП выяўлена больш за 1000 відаў сасудзістых раслін, у тым ліку 90 адвентычных, якія валодаюць пэўным інвазійным патэнцыялам (табл. 6).

Табліца 5. Сінантрапізацыя раслінных супольніцтваў на ПП трансекты 66 «Доўгае»

Table 5. Synanthropization of plant communities on transect 66 “Duhaje”

Паказчык	ПП-1 (эталон-1)	ПП-2 (экагон-1)	ПП-3 (край-1)	ПП-4 (цэнтр)	ПП-5 (край-2)	ПП-6 (экагон-2)	ПП-7 (эталон-2)
Агульная колькасць відаў сасудзістых раслін	16	11	24	21	21	10	15
У тым ліку антрапафітаў	1	0	15	17	12	1	1
Ступень сінантрапізацыі, %	0,55	0,0	66,5	83,9	63,5	0,53	1,01

Табліца 6. Характарыстыка адвентычных сасудзістых раслін з інвазійным патэнцыялам на трасах прадуктаправодаў і ЛЭП

Table 6. Adventitious vascular plants with invasive potential on productpipelines and electric transmission lines

Назва расліны	Жыццёвая форма	Ступень агрэсіўнасці віда	Сустракальнасць, %	Пакрыўнасць, %	
				сярэдня	максімальная (на трансекце)
<i>Acer negundo</i> L.	Дрэва	Моцна агрэсіўны	6,7	0,2	25 (65)
<i>Acorus calamus</i> L.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,01	3 (1a)
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,04	3 (24a)
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	Трава	Моцна агрэсіўны	1,1	0,0	0,1 (18)
<i>Amelanchier spicata</i> (Lam.) C. Koch	Хмызняк	Моцна агрэсіўны	3,3	0,1	10 (44)
<i>Anchusa officinalis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,5 (57)
<i>Anthemis arvensis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,3 (56)
<i>Apera spica-venti</i> (L.) Beauv.	Трава	Агрэсіўны	7,8	0,1	5 (24)
<i>Archangelica officinalis</i> Hoffm.	Трава	Агрэсіўны	2,2	0,01	5 (1)
<i>Arctium lappa</i> L.	Трава	Агрэсіўны	3,3	0,1	45 (32)
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) J. et C.Presl	Трава	Слаба агрэсіўны	4,4	0,03	5 (47)
<i>Artemisia absinthium</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,02	5 (58)
<i>Aster novi-belgii</i> L.	Трава	Агрэсіўны	5,6	0,1	10 (11)

Працяг табл. 6

Назва расліны	Жыццёвая форма	Ступень агрэсіўнасці віда	Сустрэкальнасць, %	Покрыўнасць, %	
				сярэдняя	максімальная (на трансекце)
<i>Atriplex patula</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,2 (18)
<i>Bidens connata</i> Muhl. ex Willd.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,1	10 (1a)
<i>Bidens frondosa</i> L.	Трава	Агрэсіўны	4,4	0,1	15 (14)
<i>Bromus mollis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,01	2 (4)
<i>Bunias orientalis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	1 (55)
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik	Трава	Слаба агрэсіўны	3,3	0,03	4 (24)
<i>Centaurea cyanus</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,1	12 (24)
<i>Centaurea stoebe</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	6,3	0,1	30 (13)
<i>Cerasus avium</i> (L.) Moench	Дрэва	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,1 (53)
<i>Chelidonium majus</i> L.	Трава	Агрэсіўны	5,6	0,1	15 (32)
<i>Chenopodium album</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	8,9	0,1	20 (24a)
<i>Cichorium intybus</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,1	20 (58)
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,01	2 (5)
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq.	Трава	Моцна агрэсіўны	38,9	1,2	80 (24)
<i>Crepis tectorum</i> L.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,0	1 (28)
<i>Echinochloa crusgalli</i> (L.) Beauv.	Трава	Агрэсіўны	3,3	0,1	5 (24)
<i>Echinocystis lobata</i> (Michx.) Torr. et Gray	Ліяна	Моцна агрэсіўны	2,2	0,01	5 (18)
<i>Echium vulgare</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	4,4	0,01	1 (5)
<i>Elodea canadensis</i> Michx.	Трава	Моцна агрэсіўны	1,1	0,01	4 (1a)
<i>Epilobium adenocaulon</i> Hausskn.	Трава	Агрэсіўны	6,7	0,1	8 (30)
<i>Erechtites hieracifolius</i> (L.) Raf. ex DC.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,01	5 (13)
<i>Erigeron annuus</i> (L.) Pers.	Трава	Агрэсіўны	3,3	0,02	5 (31)
<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Her.	Трава	Слаба агрэсіўны	4,4	0,01	2 (24)
<i>Festuca trachyphylla</i> (Hack.) Krajina	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,01	3 (19)
<i>Galinsoga ciliata</i> (Rafin.) Blake	Трава	Моцна агрэсіўны	3,3	0,1	8 (24a)
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	Трава	Моцна агрэсіўны	2,2	0,03	5 (24a)
<i>Geum macrophyllum</i> Willd.	Трава	Агрэсіўны	3,3	0,01	5 (53)
<i>Gypsophila paniculata</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,3 (12)
<i>Helianthus tuberosus</i> L.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,02	10 (56)
<i>Heracleum sibiricum</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,02	3 (50)
<i>Heracleum sosnowskyi</i> Manden.	Трава	Моцна агрэсіўны	1,1	0,1	30 (38)
<i>Impatiens glandulifera</i> Royle	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,0	1 (53)
<i>Impatiens parviflora</i> DC.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,01	7 (46)
<i>Juncus tenuis</i> Willd.	Трава	Слаба агрэсіўны	3,3	0,02	7 (26)
<i>Lamium album</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,01	3 (2)
<i>Lepidothea suaveolens</i> (Pursh) Nutt.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	10 (55)
<i>Lolium perenne</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,0	6 (55)
<i>Lupinus polyphyllus</i> Lindl.	Трава	Моцна агрэсіўны	31,1	1,6	50 (55)
<i>Malva excisa</i> Reichenb.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,5 (23)
<i>Melilotus albus</i> Medik.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,0	1 (24)
<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pall.	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,0	3 (45)
<i>Mentha arvensis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	5,6	0,02	3 (12)
<i>Oenothera biennis</i> L.	Трава	Агрэсіўны	22,2	0,4	25 (29)
<i>Oenothera rubricaulis</i> Klebahn	Трава	Агрэсіўны	14,4	0,3	15 (16)
<i>Onopordum acanthium</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	2 (18)
<i>Papaver rhoeas</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,1	30 (24)
<i>Phalacrolooma septentrionale</i> (Fern. et Wieg.) Tzavel.	Трава	Агрэсіўны	6,7	0,03	5 (23)
<i>Physocarpus opulifolius</i> (L.) Maxim.	Хмызняк	Слаба агрэсіўны	4,4	0,3	60 (53)
<i>Populus alba</i> L.	Дрэва	Агрэсіўны	1,1	0,01	5 (50)
<i>Puccinellia distans</i> (Jacq.) Parl.	Трава	Агрэсіўны	3,3	0,01	5 (17)
<i>Quercus rubra</i> L.	Дрэва	Моцна агрэсіўны	2,2	0,0	0,5 (29)
<i>Robinia pseudacacia</i> L.	Дрэва	Моцна агрэсіўны	1,1	0,0	1 (17)

Заканчэнне табл. 6

Назва расліны	Жыццёвая форма	Ступень агрэсіўнасці віда	Сустрэкальнасць, %	Покрыўнасць, %	
				сярэдняя	максімальная (на трансекце)
<i>Rosa canina</i> L.	Хмызняк	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,3 (46)
<i>Rosa rugosa</i> Thunb.	Хмызняк	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	1 (29)
<i>Rumex confertus</i> Willd.	Трава	Агрэсіўны	2,2	0,01	2 (24)
<i>Salix fragilis</i> L.	Дрэва	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	1 (1a)
<i>Sambucus nigra</i> L.	Хмызняк	Агрэсіўны	1,1	0,0	1 (4)
<i>Sambucus racemosa</i> L.	Хмызняк	Агрэсіўны	6,7	0,1	5 (65)
<i>Saponaria officinalis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,01	2 (4)
<i>Sarothamnus scoparius</i> (L.) Koch	Паўхмызняк	Моцна агрэсіўны	8,9	0,7	70 (8)
<i>Schedonorus arundinaceus</i> (Schreb.) Dumort.	Трава	Моцна агрэсіўны	5,6	0,1	25 (43)
<i>Scleranthus annuus</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	3,3	0,01	4 (16)
<i>Setaria glauca</i> (L.) P. Beauv.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,01	3 (12)
<i>Setaria viridis</i> (L.) P. Beauv.	Трава	Слаба агрэсіўны	7,8	0,2	10 (16)
<i>Sisymbrium loeselii</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,01	4 (24a)
<i>Solidago canadensis</i> L.	Трава	Моцна агрэсіўны	17,8	1,9	90 (19)
<i>Sonchus arvensis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	4,4	0,1	15 (24)
<i>Sorbaria sorbifolia</i> (L.) A. Br.	Хмызняк	Агрэсіўны	1,1	0,04	5 (53)
<i>Spergula arvensis</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	8,9	0,1	10 (26)
<i>Swida sanguinea</i> L.	Хмызняк	Слаба агрэсіўны	1,1	0,02	5 (50)
<i>Syringa vulgaris</i> L.	Хмызняк	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	1 (50)
<i>Thlaspi arvense</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,0	0,1 (50)
<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) DC.	Трава	Слаба агрэсіўны	1,1	0,1	10 (43)
<i>Trifolium hybridum</i> L.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,0	1 (57)
<i>Vicia hirsuta</i> (L.) S. F. Gray	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,01	2 (55)
<i>Vicia tetrasperma</i> (L.) Schreb.	Трава	Слаба агрэсіўны	2,2	0,01	1 (45)
<i>Xanthium albinum</i> (Widd.) H. Scholz	Трава	Агрэсіўны	1,1	0,01	2 (18)

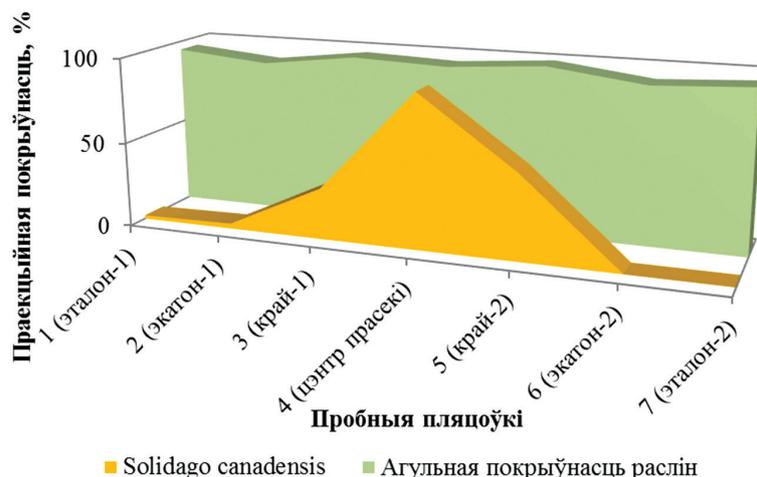
З гэтага пераліку 37 відаў уключаны ў Чорную кнігу флоры Беларусі [27]. Найбольш шырока распаўсюджаны і фітацэнатычна актыўныя з іх дробнапялёстачнік канадскі (*Conyza canadensis* (L.) Cronq. – сустрэкальнасць 38,9), лубін шматлісты (*Lupinus polyphyllus* Lindl. – сустрэкальнасць 31,1), асліннік двухгадовы (*Oenothera biennis* L. – сустрэкальнасць 22,2), сумнік канадскі (*Solidago canadensis* L. – сустрэкальнасць 17,8), асліннік чырвонасцябловы (*Oenothera rubricaulis* Klebahn – сустрэкальнасць 14,4). Усе астатнія віды сустракаюцца менш чым у 9 % выпадкаў, а большасць з іх – аднойчы (табл. 6), што сведчыць аб добрым у асноўным даглядзе за трасамі.

Ачагом рассялення інвазій з'яўляецца менавіта прасека, у большай ступені яе цэнтральная частка. Вось як змяняецца па лініі Тр праекцыйная покрыўнасць адных з самых пашыраных інвазійных відаў – сумніка канадскага і лубіна шматлістага (мал. 2, 3).

Сярод інвазій ёсць як шкодныя для асяроддзя і небяспечныя для чалавека (у прыватнасці, амброзія палыналістая – *Ambrosia artemisiifolia* L. і баршчэўнік Сасноўскага – *Heracleum sosnowskyi* Manden.), так і гаспадарча каштоўныя віды. Так, сумнік канадскі і лубін шматлісты – каштоўныя як крыніца фармакалагічнай (антыаксідантнай) і кармавой (бялковай) сыравіны, а ў фазе цвіцення абедзве расліны высокадэкартатыўныя.

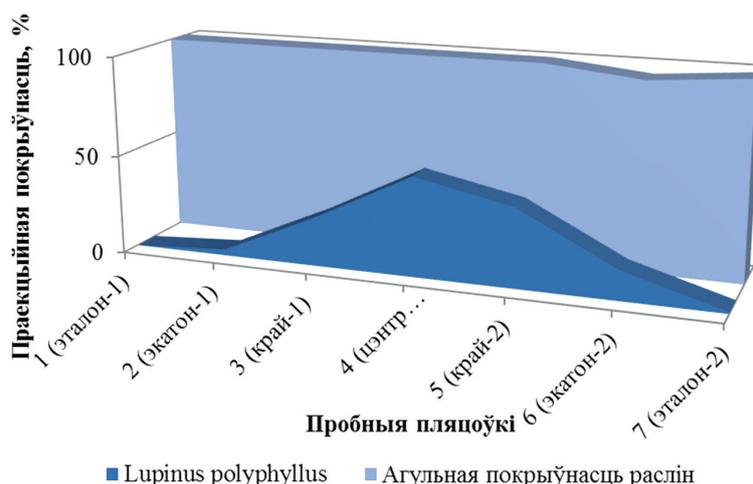
У параўнанні з ляснымі экасістэмамі, дзе праходзяць трасы прадуктаправодаў і ЛЭП, лугавыя, а яшчэ больш аграэкасістэмы адрозніваюцца меншай трансфармацыяй фітацэнозаў (асабліва пад ЛЭП) і вельмі імклівай аднаўленчай сукцэсіяй за кошт генафонду мясцовых траў.

Найбольшай сінантрапізацыяй расліннага покрыва ўздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП вылучаюцца ўчасткі ў межах урбанізаваных зон, натуральна, у залежнасці ад ступені догляду за імі. Прыкладамі могуць служыць Тр-50 «Мінск» (ступень сінантрапізацыі 50,7–77,5 %) і Тр-65 «Магілёў» (ступень сінантрапізацыі 0,57–83,3 %). На Тр-65, размешчанай на ўскраіку г. Магілёў (5,0 км на ўсход ад цэнтра горада), адзначана самая вялікая колькасць адвенцыйных відаў раслін



Мал. 2. Прасторавая дынаміка сумніка канадскага (*Solidago canadensis* L.) на фоне агульнай праекцыйнай покрывнасці раслін па лініі Тр-19 «Карантоўка», Гомельскі раён Гомельскай вобласці

Fig. 2. Spatial dynamics of canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.) in general projective cover of plants along the line of transect 19 “Karantouka”, Gomel district of Gomel region



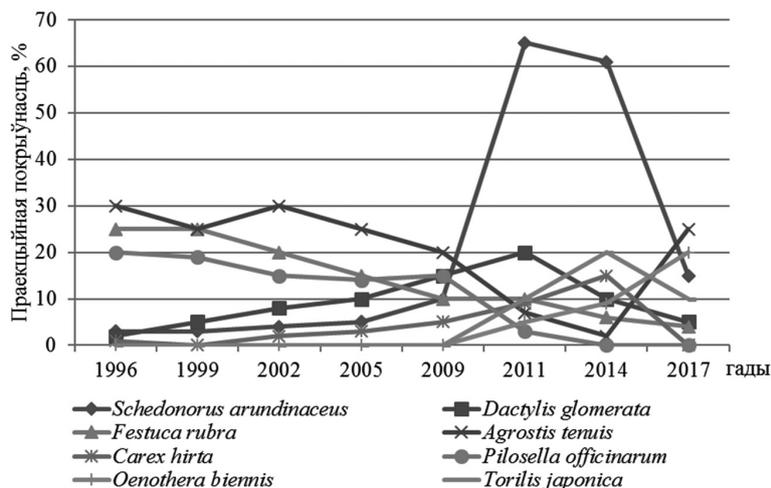
Мал. 3. Прасторавая дынаміка лубіна шматлістага (*Lupinus polyphyllus* Lindl.) на фоне агульнай праекцыйнай покрывнасці раслін па лініі Тр-55 «Бобр», Крупскі раён Мінскай вобласці

Fig. 3. Spatial dynamics of lupine multifoliolate (*Lupinus polyphyllus* Lindl.) in general projective cover of plants along the line of transect 55 “Bobr”, Krupsky district of Minsk region

(4) розных жыццёвых форм: з дрэў – клён ясенялісты (*Acer negundo* L.), з хмызнякоў – пухіраплоднік каліналісты (*Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim.) і бузіна чырвоная (*Sambucus racemosa* L.), з траў – лубін шматлісты (*Lupinus polyphyllus* Lindl.). Распаўсюджванню антрапафітаў спрыяе высокая ступень рэкрэацыйнай нагрукі на прыгарадныя лясныя экасістэмы. І наадварот, поўнай адсутнасцю сінантропных відаў характарызуюцца трасы ў вярховабалотных экасістэмах (прыклад – Тр-68 «Прыазёрнае» ў Вілейскім раёне Мінскай вобл.), што сведчыць як аб аддаленасці Тр ад асвоеных тэрыторый, так і аб экстрэмальным характары экатопу.

Відавы склад раслін, іх багатаснасць і жыццёвасць на трасах прадуктаправодаў і ЛЭП залежаць галоўным чынам ад якасці іх абслугоўвання і гаспадарчай дзейнасці. На мал. 4 адлюстравана дынаміка распаўсюджвання асноўных відаў раслін спачатку ва ўмовах пашавага рэжыму выкарыстання ўгоддзяў, а з 2009–2010 гг. – ва ўмовах паступовага спынення выпасу жывёлы, збудавання і эксплуатацыі ЛЭП.

Як бачна, нізавыя злакі мурожня чырвоная (*Festuca rubra* L.) і мятліца тонкая (*Agrostis tenuis* Sibth.) саступілі верхавым аўсянічніку трысняговаму (*Schedonorus arundinaceus* (Schreb.)



Мал. 4. Дынаміка распаўсюджвання асноўных цэнозаўтваральнікаў на ПП-1 Тр-43 «Экімань», Полацкі раён Віцебскай вобласці

Fig. 4. Dynamics of the mainspecies forming cenosis on PP-1 of transect 43 “Ekiman”, Polotsk district of Vitebsk region

Dumort.) і купкоўцы зборнай (*Dactylis glomerata* L.), а пазней з прычыны ўзрвання тэрыторыі пад ЛЭП пасяліліся і актыўна распаўсюджваюцца сеgetальныя і рудэральныя (быльняговя), у тым ліку інвазійныя, травы: асліннік двухгадовы (*Oenothera biennis* L.), пупырнік японскі (*Torilis japonica* (Houtt.) DC.), маркоўнік лясны (*Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm.) і інш.

Відавая спецыфіка антрапафітаў на трасах прадуктаправодаў і ЛЭП моцна карэлюе з глебава-грунтавымі ўмовамі: грануламетрычным складам, забяспечанасцю элементамі жыўлення раслін, шчыльнасцю і ўвільгатненнем глебы. Так, на стараворыўных глыбокарыхлапясчаных участках Тр-17 «Пянькі» фармуецца пусткавае супольніцтва з панаваннем псаммафітаў: булавоноса сівога (*Corynephorus canescens* (L.) Beauv.), пажарніцы наземнай (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth) і інвазійнага дробнапялэстачніка канадскага (*Coryza canadensis* (L.) Cronq.). Пад ЛЭП на больш



Мал. 5. Псаммафільнае супольніцтва *Koelerietum glaucae* Šmarda 1953 побач з ПП-5 (вышэй у рэльефе) Тр-17 «Пянькі», Мазырскі раён Гомельскай вобласці

Fig. 5. Psammaphilic community *Koelerietum glaucae* Šmarda 1953 near PP-5 of transect 17 “Pianki”, Mozyr district of Gomel region



Мал. 6. Ксератэрмнае супольніцтва з дамінаваннем *Festuca arietina* Klok. на ПП-1 Тр-18 «Бабовічы» на поплаве р. Сож, Мазырскі раён Гомельскай вобласці

Fig. 6. Xerothermic community with domination by *Festuca arietina* Klok. on PP-1 of transect 18 “Babovičy” in the floodplain of Sozh river, Mozyr district of Gomel region

мезатрофных участках актыўна разрастаецца ажына (*Rubus caesius* L.). На шэразе ПП гэтай Тр адзначаны месцы росту раней ахоўнага віда – смалёўкі літоўскай (*Silene lithuanica* Zapal.).

У месцах шматгадовай (мяркуючы па падросце дрэў 5–6 гадоў) адсутнасці ўзорвання прасекаі фармуюцца рэдкія для Беларусі ксератэрмныя супольніцтвы *Agrostidetum vinealis* Shelyag-Sosonko et al., 1986 (Тр-17) [5, 7] з дамінаваннем палыну лекавага (*Artemisia abrotanum* L.) (Тр-18), *Salvia pratensis-Genistetum tinctoriae* Mitroshenkova & Lysenko 2009 (Тр-17а), якія сустракаюцца пераважна ці толькі на паўднёвым усходзе краіны, а таксама унікальныя псаммафільныя – *Koelerietum glaucae* Šmarda 1953 (Тр-17) (мал. 5) і *Corynephorum canescentis* (Jurazsek 1928) Steffen 1931 (Тр-17). На нетрансфармаваных участках Тр-18 на поплаве р. Сож захавалася на значнай плошчы вельмі рэдкае для Беларусі і Еўропы супольніцтва з дамінаваннем муроўніцы баравой (*Festuca arietina* Klok.) (мал. 6).

На адкрытым поплаве р. Сож па трасе нафтаправода (Тр-18 «Бабовічы») расліннае покрыва па сваёй структуры больш нагадвае сегетальныя супольніцтвы палёў на пячаных глебах.

Высновы

З экалага-фларыстычнага і фітацэнатычнага аналізу расліннасці ўздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП вынікае наступнае:

1. Трасы прадуктаправодаў і ЛЭП – катастрафічны фактар для расліннага покрыва ў цэлым і для функцыянавання прыродных экасістэм, перш за ўсё лясных.
2. Поплаўныя лугавыя экасістэмы адрозніваюцца найменшай трансфармацыяй фітацэнозаў (асабліва пад ЛЭП) і найбольш хуткай аднаўленчай сукцэсіяй за кошт генафонду мясцовых траў.
3. Расліннае покрыва ўздоўж трас, якія праходзяць па ворных землях (у аграэкасістэмах), цалкам залежыць ад складу і агратэхнікі вырошчвання сям’ягаскультур.
4. Устойлівасць балотных супольніцтваў тлумачыцца марфалага-экалагічнымі ўласцівасцямі дамінуючых відаў (найперш асокаў, трысняга паўднёвага і сфагнавых імхоў), а таксама няздольнасцю большасці заносных відаў да засялення экстрэмальных (абводненых, халодных і бедных) месцаў росту.

На трасах прадуктаправодаў і ЛЭП, як правіла, пануюць травяністыя расліны, а пры недастатковым доглядзе актывізуецца хмызнякі і падросць дрэў:

- а) тут найлепшыя магчымасці для развіцця травяных супольніцтваў, уключаючы рэдкія і ўнікальныя, пры ўмове належных мер дагляду за ўгоддзямі, перш за ўсё рэгулярнай касьбы, высечкі падросці і хмызнякоў, але не суцэльнага ўзворвання на гэтых участках;

б) пры адсутнасці касьбы і ўзворвання развіццё дрэвава-хмызняковай расліннасці суправаджаецца распаўсюджаннем рудэральных траў, уключаючы інвазіі.

6. Трасы прадуктаправодаў і ЛЭП – палігоны і міграцыйныя рэчышчы для сегеталаў-эксплерэнтаў і шматлікіх, у тым ліку экспансійных, рудэраляў і інвазійных відаў раслін. У межах краіны на гэтых трасах выяўлена 90 інвазій, у тым ліку такія фітацэнатычна актыўныя віды, як сумнік канадскі, лубін шматлісты, дробнапялёстачнік канадскі, асліннікі, пухіраплоднік каліналісты, жарновец мяцёлчаты і інш.

7. Назіраюцца заканамернасці ў сінантрапізацыі раслінных супольніцтваў ва ўсіх экасістэмах:

а) канцэнтрацыя сінантропаў, уключаючы інвазійных адвентаў, як правіла, найбольшая на адкрытай прасторы трасы ЛЭП або прадуктаправода і рэзка змяншаецца з аддаленнем ад яе; у лесе ў 50 м ад краю трасы («эталон-1» і «эталон-2») сінантропы адсутнічаюць ці сустракаюцца адзінкава (у асноўным прадстаўнікі дрэвава-хмызняковай расліннасці);

б) найбольшай сінантрапізацыяй расліннага покрыва ўздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП вылучаюцца ўчасткі ў межах урбанізаваных зон, натуральна, у залежнасці ад ступені дагляду за імі, і чым бліжэй да населеных пунктаў, тым болей антрапафітаў, у тым ліку адвенцыйных відаў.

8. Уздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП выяўлены адзінкавыя месцы росту рэдкіх і ахоўных відаў, а таксама фітацэнозаў, што таксама звязана з пастаяннай трансфармацыяй (узворваннем) глебавага покрыва.

9. Стан і перспектывы развіцця расліннасці ўздоўж трас прадуктаправодаў і ЛЭП знаходзяцца ў прамой залежнасці ад сістэмнасці і якасці мерапрыемстваў па іх даглядзе і абслугоўванні, уключаючы выкарчоўку пнёў і хмызнякоў, узворванне зябліва і транспартную нагрузку.

Падзякі. Даследаванні выкананы ў рамках Дзяржаўнай праграмы навуковых даследаванняў «Прыродакарыстанне і экалогія» на 2016–2020 гады (падпраграма «Біяразнастайнасць, біярэсурсы і экалогія»).

Acknowledgements. The research was carried out within the framework of the State Research Program “Nature Management and Ecology” for 2016–2020 (subprogram “Biodiversity, Bioresources and Ecology”).

Спіс выкарыстаных крыніц

1. Методика проведения мониторинга растительного мира в составе Национальной системы мониторинга окружающей среды Республики Беларусь / авт.-сост. : А. В. Пугачевский [и др.] ; под ред. А. В. Пугачевского. – Минск : Право и экономика, 2011. – 165 с.
2. Программа и методика биогеоэкологических исследований / В. Н. Сукачев [и др.] ; отв. ред. Н. В. Дылис. – М. : Наука, 1974. – 403 с.
3. Метадычныя падыходы да стварэння сістэмы крытэраў інтэграванай ацэнкі стану расліннасці / А. В. Пугачэўскі [і інш.] // Маніторынг і ацэнка стану расліннага покрыва : матэрыялы Міжнар. навук.-практ. канф., Мінск, 28–31 кастр. 2003 г. / рэдкал. : В. І. Парфёнаў (адк. рэд.) [і інш.]. – Мінск, 2003. – С. 87–89.
4. Степанович, И. Мониторинг луговой и лугово-болотной растительности Беларуси: научно-методические основы, технология, сеть пунктов / И. Степанович, Е. Степанович. – Saarbrücken: LAP LAMBERT Acad. Publ., 2015. – 328 с.
5. Сцепановіч, І. М. Навуковыя асновы ацэнкі і аховы біяразнастайнасці прыроднай травяністай расліннасці Беларусі / І. М. Сцепановіч // Природ. ресурсы. – 2000. – № 3. – С. 16–27.
6. Сцепановіч, І. М. Навукова-метадычныя асновы маніторынгу луговой і лугава-балотнай расліннасці Беларусі / І. М. Сцепановіч, А. Ф. Сцепановіч. – Мінск : Беларус. навука, 2013. – 289 с.
7. Сцепановіч, І. М. Прынцыпы, метады і крытэры сазалагічнай ацэнкі раслінных супольніцтваў / І. М. Сцепановіч // Природ. ресурсы. – 2016. – № 1. – С. 34–47.
8. Сцепановіч, Я. М. Трансект-метады як аснова маніторынгу раслінных экасістэм (з нямецкага досведу) / Я. М. Сцепановіч // Міжнародны экалагічны досвед і яго выкарыстанне на Беларусі : зб. навук. артыкулаў міжнар. канф., 18–19 лістап. 2003 г., Віцебск / пад агульн. рэд. У. К. Слабіна. – Віцебск, 2003. – С. 226–230.
9. Определитель высших растений Беларуси / Т. А. Сауткина, под ред. В. И. Парфенова. – Минск : Дизайн ПРО, 1999. – 472 с.
10. Флора Беларуси. Сосудистые растения : в 6 т. / Д. И. Третьяков [и др.] ; под общ. ред. В. И. Парфенова ; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В. Ф. Купревича. – Т. 2: Liliopsida (*Acoraceae*, *Alismataceae*, *Araceae*, *Butomaceae*, *Commelinaceae*, *Hydrocharitaceae*, *Juncaginaceae*, *Lemnaceae*, *Najadaceae*, *Poaceae*, *Potamogetonaceae*, *Scheuchzeriaceae*, *Sparganiaceae*, *Typhaceae*, *Zannicheliaceae*). – Минск : Беларус. навука, 2013. – 447 с.
11. Флора Беларуси. Сосудистые растения : в 6 т. / Д. В. Дубовик [и др.] ; под общ. ред. В. И. Парфенова ; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В. Ф. Купревича. – Т. 3: Liliopsida (*Tofieldiaceae*, *Melanthiaceae*, *Colchicaceae*, *Liliaceae*, *Hyacinthaceae*, *Alliaceae*, *Ixioliriaceae*, *Hemerocallidaceae*, *Hostaceae*, *Amarylidaceae*, *Agavaceae*, *Asphodeliaceae*, *Asparagaceae*, *Ophiopogonaceae*, *Convallariaceae*, *Trilliaceae*, *Dioscoreaceae*, *Pontederiaceae*, *Iridaceae*, *Cannaceae*, *Orchidaceae*, *Juncaceae*, *Cyperaceae*). – Минск : Беларус. навука, 2017. – 573 с.

12. Красная книга Республики Беларусь. Растения: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дико-растущих растений / редкол. : И. М. Качановский (предс.) [и др.]. – 4-е изд. – Минск : Беларус. энцыкл. імя П. Броўкі, 2015. – 448 с.
13. Rothmaler, W. Exkursionflora von Deutschland. Band 3. Gefäßpflanzen: Atlasband / W. Rothmaler. – Jena; Stuttgart: Gustav Fischer Verl., 1994. – 754 S.
14. Флора Беларусі. Мохообразные : в 2 т. / Г. Ф. Рыковский, О. М. Масловский ; под ред. В. И. Парфенова. – Т. 1: *Andreaeopsida–Bryopsida*. – Минск : Тэхналогія, 2004. – 437 с.
15. Флора Беларусі. Мохообразные: в 2 т. / Г. Ф. Рыковский, О. М. Масловский ; под ред. В. И. Парфенова. – Т. 2: *Hepaticopsida–Sphagnopsida*. – Минск : Беларус. навука, 2009. – 213 с.
16. Горбач, Н. В. Лишайники Белоруссии: определитель / Н. В. Горбач. – Минск : Наука и техника, 1973. – 335 с.
17. Braun-Blanquet, J. Pflanzensociologie. Grundzüge der Vegetationskunde / J. Braun-Blanquet. – Aufl. 3. – Wien : Springer-Verlag, 1964. – 865 S.
18. Chytrý, M. Vegetace České republiky 4. Lesí a křovinná vegetace = Vegetation of the Czech Republic 4. Forest and Scrub Vegetation / M. Chytrý (ed.), J. Douda, J. Roleček, J. Sádlo, K. Boublík, R. Hédl, M. Vitková, D. Zelený, J. Navrátilová, Z. Neuhäuslová, P. Petřík, J. Kolbek, Z. Lososová, K. Šumberová & R. Hrivnák. – Praha : Academia, 2013. – 551 p.
19. Matuszkiewicz, W. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski / W. Matuszkiewicz. – Warszawa : PWN, 2001. – 537 s.
20. Schubert, R. Bestimmungsbuch der Pflanzengesellschaften Mittel- und Nordostdeutschlands / R. Schubert, W. Hilbig, S. Klotz. – Jena; Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1995. – 403 S.
21. Соломаха, В. А. Синтаксономія рослинності України / В. А. Соломаха // Укр. фітоцен. зб. Сер. А, Фіто-соціологія. – 1996. – № 4 (5). – 119 с.
22. Сцепановіч, Я. М. Фітацэнаразнастайнасць расліннасці Беларусі / Я. М. Сцепановіч // Ботаника (исследования). – 2006. – Вып. 34. – С. 264–281.
23. Гнатюк, Е. П. Методы исследования ценофлор (на примере растительных сообществ вырубок Карелии) / Е. П. Гнатюк, А. М. Крышень. – Петрозаводск : Карельск. науч. центр РАН, 2005. – 68 с.
24. Черепанов, С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств / С. К. Черепанов. – 2-е изд. – СПб. : Мир и семья, 1995. – 990 с.
25. Список мхов Восточной Европы и Северной Азии / М. С. Игнатов [и др.] // *Arctoa*. – 2006. – Т. 15. – С. 1–130.
26. Poelt, J. The lichens Ahmadjians and M. E. Hale / J. Poelt // *The Lichens* / ed. : V. Ahmadjian, M. E. Hale. – New York, 1973. – P. 599–632.
27. Черная книга флоры Беларусі: чужеродные вредоносные растения / Д. В. Дубовик [и др.]; под общ. ред. В. И. Парфенова, А. В. Пугачевского. – Минск : Беларус. навука, 2020. – 407 с.

References

1. Pugachevskii A. V., Stepanovich I. M., Voznyachuk I. P., Semerenko L. V., Maslovskii O. M., Mastibrotskaya I. P. [et al.]. *Methodology for monitoring the flora as part of the National Environmental Monitoring System of the Republic of Belarus*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2011. 165 p. (in Russian).
2. Dylis N. V. (ed.). *Program and methodology of biogeocenological research*. Moscow, Nauka Publ., 1974. 403 p. (in Russian).
3. Pugachevskii A. V., Malazhauski A. A., Stepanovich J. M., Ulasau B. P., Gigevich G. S. Methodical approaches to creating a system of criteria for integrated assessment of vegetation. *Manitoryng i atsenka stanu raslinnaga pokryva: materyyaly Mizhnarodnai navukova-praktychnai kanferentsyi (Minsk, 28–31 kastychnika 2003 goda)* [Monitoring and assessment of vegetation: materials of the International scientific and practical conference (Minsk, October 28–31, 2003)]. Minsk, 2003, pp. 87–89 (in Belarusian).
4. Stepanovich I., Stepanovich E. *Monitoring of meadow and meadow-bog vegetation in Belarus: scientific and methodological foundations, technology, network of points*. Saarbrücken, LAPLAMBERT Academic Publishing, 2015. 328 p. (in Russian).
5. Stepanovich I. M. Scientific bases of an estimation and protection of biodiversity of natural grassy vegetation of Belarus. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2000, no. 3, pp. 16–27 (in Belarusian).
6. Stepanovich I. M., Stepanovich E. F. *Scientific and methodological basis of monitoring of meadow and meadow-mire vegetation of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2013. 289 p. (in Belarusian).
7. Stepanovich I. M. Principles, methods and criteria for sociological assessment of plant communities. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2016, no. 1, pp. 34–47 (in Belarusian).
8. Stepanovich J. M. Transect method as a basis for monitoring plant ecosystems (from the German experience). *Mizhnarodny ekalagichny dosved i yago vykarystanne na Belarusi: zbornik navukovykh artykulau mizhnarodnai kanferentsyi (Vitebsk, 18–19 listapada 2003 goda)* [International environmental experience and its use in Belarus: a collection of scientific articles of the international conference (Vitebsk, November 18–19, 2003)]. Vitebsk, 2003, pp. 226–230 (in Belarusian).
9. Sautkina T. A., Tret'yakov D. I., Zubkevich G. I., Parfenov V. I. *Determinant of higher plants of Belarus*. Minsk, Dizain PRO Publ., 1999. 472 p. (in Russian).
10. Tret'yakov D. I., Dubovik D. V., Skuratovich A. N., Parfenov V. I., Yakovleva I. M., Lebed'ko V. N., Bednarskaya I. A., Lazarevich S. V., Zhitenev L. A. *Flora of Belarus. Vascular plants. Vol. 2. Liliopsida (Acoraceae, Alismataceae, Araceae,*

Butomaceae, Commelinaceae, Hydrocharitaceae, Juncaginaceae, Lemnaceae, Najadaceae, Poaceae, Potamogetonaceae, Scheuchzeriaceae, Sparganiaceae, Typhaceae, Zannicheliaceae). Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2013. 447 p. (in Russian).

11. Dubovik D. V., Skuratovich A. N., Parfenov V. I., Savchuk S. S., Lebed'ko V. N., Tret'yakov D. I., Dmitrieva S. A., Yakovleva I. M. *Flora of Belarus. Vascular plants. Vol. 3. Liliopsida (Tofieldiaceae, Melanthiaceae, Colchicaceae, Liliaceae, Hyacinthaceae, Alliaceae, Ixioliriaceae, Hemerocallidaceae, Hostaceae, Amarylidaceae, Agavaceae, Asphodeliaceae, Asparagaceae, Ophiopogonaceae, Convalliriaceae, Trilliaceae, Dioscoreaceae, Pontederiaceae, Iridaceae, Cannaceae, Orchidaceae, Juncaceae, Cyperaceae)*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2017. 573 p. (in Russian).

12. *Red Book of the Republic of Belarus. Plants: rare and endangered species of wild plants. 4th ed.* Minsk, Belarusian encyclopedia named after P. Brovka, 2015. 448 p. (in Russian).

13. Rothmaler W. *Exkursionsflora von Deutschland. Band 3. Gefäßpflanzen: Atlasband.* Jena; Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1994. 754 S.

14. Rykovskii G. F., Maslovskii O. M. *Flora of Belarus. Bryophytes. Vol. 1. Andreaeopsida–Bryopsida.* Minsk, Tekhnologiya Publ., 2004. 437 p. (in Russian).

15. Rykovskii G. F., Maslovskii O. M. *Flora of Belarus. Bryophytes. Vol. 2. Hepaticopsida–Sphagnopsida.* Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2009. 213 p. (in Russian).

16. Gorbach N. V. *Lichens of Belarus: key.* Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1973. 335 p. (in Russian).

17. Braun-Blanquet J. *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde. 3 Aufl.* Wien, Springer-Verlag, 1964. 865 S.

18. Chytrý M., Douda J., Roleček J., Sádlo J., Boublík K., Hédl R. [et al.]. *Vegetace České republiky 4. Lesí akřovinná vegetace = Vegetation of the Czech Republic 4. Forest and Scrub Vegetation.* Praha, Academia Publ., 2013. 551 p.

19. Matuszkiewicz W. *Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski.* Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, 2001. 537 s.

20. Schubert R., Hilbig W., Klotz S. *Bestimmungsbuch der Pflanzengesellschaften Mittel- und Nordostdeutschlands.* Jena; Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1995. 403 S.

21. Solomakha V. A. *Syntaxonomy of vegetation of Ukraine. Ukraïns'kii fitosenologichnii zbirnik. Seriya A. Fitosotsiologiya [Ukrainian phytocenological collection. Series A. Phytosociology], 1996, no. 4 (5). 119 p. (in Ukrainian).*

22. Stepanovich J. M. *Phytocene diversity of vegetation of Belarus. Botanika (issledovaniya) [Botany (research)], 2006, vol. 34, pp. 264–281.*

23. Gnatyuk E. P., Kryshen'A. M. *Methods for the study of coenoflora (on the example of plant communities of clear-cut areas in Karelia).* Petrozavodsk, Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2005. 68 p. (in Russian).

24. Cherepanov S. K. *Vascular plants of Russia and neighboring states. 2nd ed.* Sankt-Peterburg, Mir i sem'ya Publ., 1995. 990 p. (in Russian).

25. Ignatov M. S., Afonina O. M., Ignatova E. A., Abolinya A. A., Akatova T. V., Baisheva E. Z. [et al.]. *Check-list of mosses of East Europe and North Asia. Arctoa, 2006, vol. 15, pp. 1–130.*

26. Poelt J. *The lichens Ahmadjans and M. E. Hale. The Lichens.* New York, 1973, pp. 599–632.

27. Dubovik D. V., Savchuk S. S., Skuratovich A. N., Sysoi I. P., Chumakov L. S., Yakovlev I. M. [et al.]. *The Black Book of the flora of Belarus: alien harmful plants.* Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2020. 407 p. (in Russian).

Інфармацыя пра аўтараў

Сцяпановіч Іосіф Міхайлавіч – д-р біял. навук, гал. навук. супрацоўнік. Інстытут эксперыментальнай батанікі імя В. Ф. Купрэвіча НАН Беларусі (вул. Акадэмічная, 27, 220072, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: jazep.st@hotmail.com

Суднік Аляксандр Уладзіміравіч – канд. біял. навук, загадчык сектара. Інстытут эксперыментальнай батанікі імя В. Ф. Купрэвіча НАН Беларусі (вул. Акадэмічная, 27, 220072, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: asudnik@tut.by

Information about the authors

Iosiph M. Stepanovich – D. Sc. (Biol.), Chief Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademichnaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jazep.st@hotmail.com

Aliaksandr V. Sudnik – Ph. D. (Biol.), Head of the Sector. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademichnaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: asudnik@tut.by

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ
SCIENTISTS OF BELARUS

НИКОЛАЙ АФАНАСЬЕВИЧ ЛАМАН

(К 80-летию со дня рождения)



1 января 2021 г. исполнилось 80 лет со дня рождения известного ученого в области физиологии растений, академика НАН Беларуси, доктора биологических наук, профессора, заведующего лабораторией роста и развития растений Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси Николая Афанасьевича Ламана.

Николай Афанасьевич родился в д. Загорье Кореличского района Гродненской области. В 1963 г. с отличием окончил агрономический факультет Гродненского сельскохозяйственного института. В 1968–1970 гг. – аспирант, в 1971–1974 гг. – научный сотрудник Института экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича АН БССР. В марте 1974 г. решением Президиума АН БССР Н. А. Ламан назначается на должность ученого секретаря Отделения биологических наук АН БССР. Одновременно он продолжает научно-исследовательскую работу в Институте в качестве ответственного исполнителя раздела темы.

В 1978 г. Н. А. Ламан возвращается на работу в Институт экспериментальной ботаники и в мае 1979 г. избирается заведующим лабораторией, где он сосредотачивается на решении проблем продуктивности и устойчивости растений хлебных злаков. Выполненные в этот период исследования позволили выявить закономерности структурно-функциональной организации растений хлебных злаков, сформулировать принципы формирования их высокопродуктивных агроценозов, обосновать направления селекции и параметры морфофизиологических моделей сортов зерновых с высокой потенциальной продуктивностью, разработать способы оценки исходного материала в селекции. Результаты этих исследований обобщены в трех монографиях, а также в докторской диссертации «Морфофизиологические особенности структурно-функциональной организации растений хлебных злаков в связи с потенциалом их продуктивности» (1992).

Н. А. Ламан был одним из инициаторов создания и научным консультантом «Клуба-100 центров», объединившим в 1980-е годы специалистов Гомельской области, которые поставили своей целью получить высокие и рекордные урожаи зерновых культур. Совместно с сотрудниками лаборатории им были организованы регулярные занятия по биологическим основам интенсивных технологий и их освоению в производстве, изданы многочисленные методические и практические руководства и рекомендации для этих целей.

В декабре 1997 г. Н. А. Ламан назначается заместителем директора по научной работе, а в ноябре 2000 г. избирается директором Института экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси, которым он успешно руководил до мая 2010 г.

Особое внимание Н. А. Ламаном уделялось комплексным исследованиям по созданию научных основ современного устойчивого и экологически безопасного растениеводства, выявлению закономерностей конструирования и механизмов функционирования смешанных агрофитоценозов. Развитие этого направления позволяет успешно вести поиск приемов, соединяющих экологическую направленность экстенсивного сельского хозяйства и преимущества наукоемкого интенсивного производства продовольствия, предлагать новые способы стимуляции продукционного

процесса в агроэкосистемах. Результаты этих исследований обобщены в монографии «Физиолого-экологические основы оптимизации продукционного процесса агрофитоценозов (поликультура в растениеводстве)», опубликованной совместно с учениками и коллегами в 2005 г.

В течение последних лет под руководством Н. А. Ламана осуществляется поиск новых экологически безопасных подходов по ограничению распространения и численности злостного инвазивного вида – борщевика Сосновского. С его непосредственным участием разработаны стратегия и план действий по борьбе с борщевиком Сосновского и другими наиболее опасными инвазивными видами растений на территории Республики Беларусь на 2018–2025 гг. Проведен ряд научных, научно-практических и организационных мероприятий. Н. А. Ламан стал одним из соавторов опубликованной монографии «Черная книга флоры Беларуси».

Н. А. Ламан – автор более 450 научных работ, в том числе 6 монографий, 5 книг, 35 патентов и авторских свидетельств, 14 рекомендаций, отраслевых регламентов и технических условий. Он является научным редактором ежегодника «Ботаника (исследования)» и входит в состав редколлегии журналов «Вестник Фонда фундаментальных исследований» и «Известия НАН Беларуси. Серия биологических наук». Под его научным руководством выполнены и успешно защищены 1 докторская и 9 кандидатских диссертаций.

В 1997 г. Николай Афанасьевич избран членом-корреспондентом НАН Беларуси по специальности «экспериментальная ботаника», в 2000 г. ему присвоено ученое звание профессора, в 2003 г. он избран академиком НАН Беларуси, а в 2008 г. – Почетным доктором (Doctor Honoris Causa) Гродненского государственного аграрного университета.

На протяжении всего периода работы Николай Афанасьевич успешно сочетает научную работу с научно-организационной и общественной деятельностью. Он возглавлял экспертный совет ВАК по биологическим наукам, был членом Государственного экспертного совета по производству и переработке сельскохозяйственной продукции Комитета по науке и технологиям Республики Беларусь, экспертного совета Секции биологических наук Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Бюро Отделения биологических наук НАН Беларуси, являлся председателем Государственного экспертного совета № 10 «Природопользование и экология» при ГКНТ Республики Беларусь. В настоящее время Николай Афанасьевич – заместитель Председателя Совета по защите диссертаций Д 01.38.01 при Институте экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси, член научно-технического совета ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», Ученого совета Института, возглавляет Белорусское общественное объединение физиологов растений, является инициатором и бессменным Председателем оргкомитета Международной научной конференции «Регуляция роста, развития и продуктивности растений», которая с 1997 г. проводится раз в 2–4 года.

Николай Афанасьевич – патриот своей «малой родины». Он с большой увлеченностью собирает материалы по ее истории. К 145-летию его родной школы в селении Турец Кореличского района вышла его книга «Родники разумного, доброго, вечного». За серию очерков по истории храмов родного края в 2020 г. он удостоен высшей награды Новогрудской епархии – медали «Преподобный Елисей Лавришевский».

За научные достижения и общественную деятельность Н. А. Ламан неоднократно награждался почетными грамотами института, Национальной академии наук Беларуси. Он удостоен медали Франциска Скорины (2016), Почетной грамоты Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь, награжден Памятным знаком «У гонар 90-годдзя Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі» (2018), Грамотой Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь (2019).

Отделение биологических наук, коллектив сотрудников Института экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, коллеги и ученики сердечно поздравляют Николая Афанасьевича с юбилеем и желают крепкого здоровья, творческого вдохновения, успехов во всех начинаниях, благополучия.

*А. В. Кильчевский, В. И. Торчик, А. В. Пугачевский,
В. И. Парфенов, М. Е. Никифоров, В. Н. Прохоров,
Д. Г. Груммо, Ж. Н. Калацкая, А. Ф. Судник, Ж. М. Анисова*

МИХАИЛ ЕФИМОВИЧ НИКИФОРОВ

(К 65-летию со дня рождения)



21 января 2021 г. исполнилось 65 лет со дня рождения известного ученого в области зоологии, экологии, зоогеографии, популяционной генетики животных и управления биоресурсами, академика НАН Беларуси, доктора биологических наук, профессора Михаила Ефимовича Никифорова.

Михаил Ефимович Никифоров родился в д. Новоельяны Дятловского района Гродненской области. Высшее образование получил на биологическом факультете Белорусского государственного университета. Трудовую деятельность М. Е. Никифоров начал еще студентом в 1977 г. в Отделе зоологии и паразитологии АН БССР (позже Институт зоологии АН БССР, сейчас ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»). В 1988 г. в Зоологическом институте РАН в Ленинграде М. Е. Никифоров успешно защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Накоп-

ленные за годы работы результаты легли в основу уникальной для своего времени и известной далеко за пределами нашей страны книги «Птицы Белоруссии: справочник-определитель гнезд и яиц», где М. Е. Никифоровым и его коллегами собран богатейший фактический и иллюстративный материал по гнездованию, статусу, местообитаниям, гнездам и кладкам 220 видов птиц Беларуси. В 1990-е годы эта книга-справочник была отмечена как одна из лучших работ в АН БССР.

Начиная с 1992 г. М. Е. Никифоров совмещал научные исследования с работой на административных должностях – ученого секретаря, заместителя директора по научной работе, а в марте 2002 г. он был назначен на должность директора Института зоологии.

В 2006 г. М. Е. Никифоров защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук по теме «Закономерности орнитофауногенеза в плейстоцен-голоцене и современная структура орнитофауны Беларуси». В 2008 г. ему было присвоено ученое звание профессора по специальности «биология», и в этом же году он был назначен генеральным директором Государственного научно-производственного объединения «Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам». В 2009 г. М. Е. Никифоров был избран членом-корреспондентом, а в 2014 г. – академиком НАН Беларуси. В период с 2014 по 2019 г. М. Е. Никифоров работал на должности академика-секретаря Отделения биологических наук НАН Беларуси.

Многочисленные публикации и выступления М. Е. Никифорова посвящены вопросам сохранения биологического разнообразия, рационального природопользования и грамотного управления биоресурсами, экологизации общественного сознания. Михаил Ефимович Никифоров принимает активное участие в подготовке ряда нормативных правовых документов, определяющих государственную политику в области охраны природы и рационального использования ее ресурсов, входит в состав научно-технических советов национальных парков республики, Березинского биосферного и Полесского государственного радиационно-экологического заповедников. Кроме того, он был первым президентом Белорусской общественной организации «Ахова птушак Бацькаўшчыны», ставшей представителем “BirdLife International” в Беларуси. М. Е. Никифоров активно участвовал в ликвидации последствий техногенной катастрофы в первые годы после аварии на Чернобыльской АЭС и в настоящее время продолжает научные исследования в данном направлении в рамках государственных программ. На протяжении всей научной карьеры и в особенности в период работы академиком-секретарем М. Е. Никифоров успешно представлял

Республику Беларусь на международной арене, являясь в разные годы национальным научным экспертом по вопросам сохранения биоразнообразия и неоднократно участвуя в международных научных конференциях, симпозиумах и совещаниях в более чем 20 странах мира.

В Беларуси М. Е. Никифоров является основоположником системных исследований орнито-фауногенеза и филогеографии животных. Под его руководством в НПЦ по биоресурсам сформирована научно-практическая орнитологическая школа, развитие которой в настоящее время обеспечивают подготовленные им кандидаты наук. Созданный М. Е. Никифоровым национальный центр кольцевания и изучения миграций птиц входит в европейскую систему центров кольцевания. Понимая, что достижения в генетических исследованиях диких животных позволяют глубже оценить эволюционные события, фаунистические перестройки, динамику и устойчивость биоразнообразия как в историческом прошлом, так и на современном этапе, М. Е. Никифоров инициировал в 2005 г. развитие нового для института направления исследований на стыке классической зоологии и молекулярной генетики, результатом чего стало создание лаборатории молекулярной зоологии, которой он руководит в настоящее время. Под руководством М. Е. Никифорова и при его непосредственном участии создан Генетический банк дикой фауны, представляющий собой многотысячную коллекцию образцов биологического материала различных видов животных Палеарктики и отнесенный к брендам НАН Беларуси.

Более 40 лет М. Е. Никифоров посвятил развитию зоологии и природоохранным исследованиям. В настоящее время в копилке его достижений более 250 научных публикаций, 4 патента и 1 авторское свидетельство, 8 подготовленных кандидатов биологических наук.

За личностные качества и высокий профессионализм М. Е. Никифоров неоднократно был награжден почетными грамотами различных министерств и ведомств, многократно отмечен наградами НАН Беларуси, в том числе за достижения ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (Доска Почета НАН Беларуси – 2014, 2015). М. Е. Никифоров удостоен персональной надбавки Президента за значительный вклад в социально-экономическое развитие Республики Беларусь, а также награжден нагрудным знаком отличия им. В. М. Игнатовского НАН Беларуси. За успехи в профессиональной и научно-организационной деятельности М. Е. Никифоров в 2016 г. удостоен государственной награды – медали Франциска Скорины.

Коллеги и друзья сердечно поздравляют Михаила Ефимовича с юбилеем, желают ему крепкого здоровья, неиссякаемой творческой энергии и новых научных достижений.

*Отделение биологических наук НАН Беларуси,
коллектив ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»*

ПАМЯТИ АКАДЕМИКА СЕРГЕЯ ВАСИЛЬЕВИЧА КОНЕВА

(К 90-летию со дня рождения)



Выдающемуся отечественному биологу, создателю крупной научной школы белорусских биофизиков, широко известной далеко за пределами нашей страны, академику НАН Беларуси Сергею Васильевичу Коневу 19 января исполнилось бы 90 лет.

Сергей Васильевич Конев родился 19 января 1931 г. в д. Локоть Брянской области в семье служащего. В 1954 г. он с отличием окончил биолого-почвенный факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, в 1957 г. – аспирантуру кафедры биофизики этого факультета, где годом позже защитил кандидатскую диссертацию.

В 1959 г. С. В. Конев по приглашению видного отечественного ученого А. А. Шлыка переехал в г. Минск и организовал на базе Лаборатории биофизики и изотопов Академии наук БССР первую группу белорусских исследователей-биофизиков. С этого момента и до конца жизни вся его научная и общественная деятельность была неразрывно связана с этим научным коллективом: в 1973 г.

Лаборатория была преобразована в Институт фотобиологии АН БССР, а в 2004 г. – в Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

В 1968 г. С. В. Конев защитил докторскую диссертацию и через год стал профессором. В 1989 г. он был избран членом-корреспондентом, а в 1994 г. – действительным членом НАН Беларуси. С 1967 г. и практически до самого ухода из жизни Сергей Васильевич работал заведующим лабораторией Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

С. В. Конев создал в Беларуси крупную научную биофизическую школу, широко известную далеко за пределами нашей страны. Он установил ряд основополагающих фундаментальных научных закономерностей, которые впоследствии оказали огромное влияние на развитие не только биофизической науки, но и прикладных направлений биологии и медицины. Некоторые фундаментальные научные положения и разработки академика С. В. Конева опередили время и актуальны до наших дней.

Сфера научных интересов Сергея Васильевича начала формироваться еще в годы обучения в аспирантуре: он оказался одним из пионеров в изучении природы и открытии механизма нового физического свойства белков – способности к флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра. Уже в ранних работах С. В. Коневым было установлено, что спектры флуоресценции белков формируются за счет только трех ароматических аминокислот – триптофана, тирозина и фенилаланина, обладающих способностью к люминесценции как в свободном, так и в связанном состоянии. С. В. Коневу удалось установить связь флуоресценции белковой макромолекулы с ее структурным состоянием и вскрыть конформационные аспекты фотобиологии белков. В последующие годы ультрафиолетовая флуоресценция белков стала объектом пристального внимания большой когорты исследователей во многих лабораториях мира. Научный вклад и приоритет Сергея Васильевича в этой области исследований признан биофизиками всех стран и послужил отправной точкой для развития принципиально новых представлений об оптических свойствах биологических макромолекул. Его монография «Электронно-возбужденные состояния биополимеров», вышедшая в 1965 г., была переведена на английский язык и уже через год переиздана в США. Она стала настольной книгой многих поколений биофизиков, причем следует отметить, что ссылки на эту фундаментальную работу встречаются в научных статьях и по сей день.

Разработанные С. В. Коневым и его учениками флуоресцентные методы анализа биологического материала широко применяются не только в научных исследованиях, но и в практической медицине, сельском хозяйстве и промышленности. За цикл работ «Люминесценция белков и ее применение в научных исследованиях и практике» в 1992 г. С. В. Конев в составе коллектива был удостоен Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники.

Логическое развитие работ С. В. Конева привело к теоретически и экспериментально обоснованной концепции о кооперативных генерализованных перестройках мембран как экспрессном механизме регуляции клеточной активности, а позднее и к развитию нового направления в биофизической науке – мембранологии. Понимание соотносительной роли цитоскелета, белкового каркаса и липидного бислоя в структурной организации мембран, их структурной лабильности, локальных и генерализованных перестройках с различной степенью кооперативности, классификация мембранных переходов в зависимости от природы и специфичности иницирующего воздействия позволили обосновать представление о роли мембранной регуляции в жизнедеятельности клетки. В продолжение этих работ дана оценка роли структурно-мембранных аспектов в управлении межклеточными контактами и взаимодействиями, регулируемыми размножением и двигательную активность клеток, их дифференцировку, процесс «узнавания», эмбриональное развитие, реализацию генетической информации, иммунологию и канцерогенез. Публикации по данной тематике получили широкий научный резонанс. Они были обобщены в монографиях «Кооперативные переходы белков в клетке» (1970) и «Межклеточные контакты» (1977), подготовленных С. В. Коневым в соавторстве с его учениками.

Впервые в мировой и отечественной науке на молекулярном и мембранном уровнях был исследован и систематизирован один из фундаментальных вопросов фотобиологии, а именно высшая форма информационно-регуляторных фотобиологических реакций – зрительная рецепция. Экспериментально были подтверждены представления о ключевом значении биомембран и их структурной динамике в механизме трансдукции и внутриклеточной сигнализации при зрительной рецепции. Все эти вопросы отражены в монографиях, написанных С. В. Коневым совместно с И. Д. Волотовским: «Введение в молекулярную фотобиологию» (1971) и «Структурная динамика фоторецепторного аппарата» (1986).

С. В. Конев впервые создал оригинальную модель структурной организации биологической мембраны, которая подтверждалась экспериментальными данными и которая по сей день остается актуальной. Твердокаркасно-жидкомозаичная модель предполагает следующее устройство биомембраны: многие интегральные белки, заякоренные в липидном бислое, соединены между собой «мостиками» из молекул периферических белков, и, таким образом, вся система образует непрерывный твердо-упругий каркас. Такая липопротеиновая сетка может распадаться и вновь собираться на определенных этапах жизненного цикла клетки или под воздействием внешних факторов; кроме того, не все интегральные белки могут быть включены в каркас, вследствие чего они обладают латеральной и вращательной диффузией. Таким образом, существование в мембране двух непрерывных матриксов – липидного и белкового – позволяет адекватно объяснять структурно-динамическое поведение клеточной мембраны.

В последние десятилетия своей жизни академик С. В. Конев совместно с коллегами выдвинул и экспериментально обосновал оригинальное представление о напряженных метастабильных состояниях в живой клетке. Из четырех источников напряженности (мембранный и поверхностный потенциал, осмотические силы и взаимодействие липидный бислоем – белковый каркас) наибольшее внимание уделялось осмотическим эффектам, регуляции объема клетки (на примере нервной). Впервые в мире было обнаружено, что изменение объема клетки влияет не только на освобождение нейромедиаторов, но и на системы их обратного захвата, что в итоге позволяет разработать новую стратегию лечения тяжелого неврологического заболевания – отека мозга.

Еще одним направлением деятельности С. В. Конева и его коллег в ответ на потребности практики стало изучение фундаментальных процессов взаимодействия биологических объектов с озоном. В результате созданы основы озонобиологии клетки, где показано, что главной мишенью биологического действия озона является плазматическая мембрана. Выявлена бифазность действия озона: низкие дозы O_3 имитируют дыхание и размножение клеток микроорганизмов,

высокие – ингибируют эти процессы. Эти многолетние фундаментальные исследования привели к разработке ряда биотехнологий, в частности оригинальной технологии хранения плодовоовощной продукции путем обработки озono-воздушной смесью и новой эффективной биотехнологии получения АТФ из дрожжевой биомассы без использования дорогостоящих предшественников.

Помимо изучения фундаментальных аспектов жизнедеятельности клетки в своей научной работе академик С. В. Конев уделял большое внимание раскрытию механизмов осуществления конкретных физиологических процессов и практическому применению новых знаний в медицине и биотехнологии. Под его руководством разработаны новые диагностические приемы на основе фотоники белков, позволяющие проводить оценку тяжести состояния пациента и анализировать рациональность выбранных схем терапии. В последние годы своей жизни он уделял много внимания созданию эффективных липосомальных форм лекарственных препаратов – таргетных лекарственных средств с использованием наноразмерных носителей.

Широта научного кругозора и энциклопедичность знаний С. В. Конева поражает. Он автор более 600 научных работ и изобретений, в том числе 13 монографий. Следует отметить его активную педагогическую деятельность – в течение многих лет он читал курсы лекций в Белгос-университете и МГЭУ им. А. Д. Сахарова, был автором нескольких учебных пособий (например, написанная совместно с И. Д. Волотовским «Фотобиология» претерпела два издания), которые во многом не утратили своей актуальности и до сих пор используются в учебном процессе. Большая плеяда не только белорусских, но и зарубежных талантливых ученых-биофизиков с гордостью считают себя учениками С. В. Конева. Им подготовлено 38 кандидатов и 10 докторов наук. Среди его учеников – академик и два члена-корреспондента НАН Беларуси.

С. В. Конев был необыкновенно обаятельным, чутким и внимательным человеком. Доброжелательность, исключительная научная щедрость, стремление передавать свои знания и научные идеи другим привлекали к нему молодежь и зрелых ученых. Его ученики становились друзьями, которых он всегда старался поддерживать. Академик С. В. Конев пользовался исключительно высоким авторитетом в самых широких кругах научной общественности – биофизиков, ученых-медиков и биологов Беларуси, стран ближнего и дальнего зарубежья.

Имя Сергея Васильевича Конева – выдающегося ученого, посвятившего свою жизнь развитию биологической науки, – по праву занимает почетное место в ряду крупных ученых-биологов.

*Отделение биологических наук, ученики и сотрудники
Института биофизики и клеточной инженерии*