

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

ВЕСЦІ НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2021. Т. 66, № 2

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2021. Т. 66, № 2

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

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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

Главный редактор

Михаил Ефимович Никифоров – 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, № 2.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*

Компьютерная верстка *И. В. Счеснюк*

Подписано в печать 07.04.2021. Выход в свет 29.04.2021. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 80 экз. Заказ 64.

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. 2

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

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Editor-in-Chief

Mikhail E. Nikiforov – 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
Vasiliy 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. 2.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*

Computer imposition *I. V. Schasniuk*

Sent for press 07.04.2021. Output 29.04.2021. Format 60×84¹/₈. Offset paper.

Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 80 copies. Order 64.

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

Байчорав В. М., Гигиняк Ю. Г., Мороз М. Д., Гигиняк И. Ю., Корзун Е. В. Изменение экологического качества воды реки Западная Двина в результате воздействия городских сточных вод	135
Головченко Л. А., Дишук Н. Г., Пантелеев С. В., Баранов О. Ю. Новые данные о распространении инвазивного вида <i>Dothistroma septosporum</i> (Dorogin) M. Morelet на территории Беларуси	147
Гриц А. Н., Карасева Е. Н., Макарова Т. Б., Рыбинская Е. И., Ольшаникова А. Л., Янчевская Т. Г., Вязов Е. В., Курьянчик Т. Г., Савина С. М., Шалыго Н. В. Действие комплексного препарата с индукторами устойчивости к патогенам на инфицирование X-вирусом растений картофеля (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	159
Караневский Р. И., Торчик В. И. Фенологические ритмы декоративных форм различных видов пихт (<i>Abies</i> Mill.) коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси	169
Седун Е. А., Абдирахимова С. Ш., Зубарев А. В., Спиридович Е. В., Решетников В. Н., Шеримбетов С. Г., Назирова Э. Р. Особенности прорастания семян и развития проростков дерезы русской (<i>Lycium ruthenicum</i> Murr.) в лабораторных условиях и в культуре <i>in vitro</i>	176
Кем К. Р., Ламан Н. А., Копылова Н. А., Хрипач В. А. Фитогормональная активность брассиностероидов лактонной структуры в условиях химического стресса у растений	186
Лапука И. И., Вежновец В. В. Таксономическая структура зообентоса водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС	194
Деева А. М., Войцеховская Е. А., Спиридович Е. В., Решетников В. Н. Содержание фенольных соединений в листьях пиона древовидного (<i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.) и их антиоксидантная активность	205
Мандрусова В. С., Гордей И. С., Люсиков О. М., Шимко В. Е., Гордей И. А. Изучение генофонда озимой ржи <i>Secale cereale</i> L. Республики Беларусь с применением микросателлитных маркеров	215
Самохвалова Н. В., Кручонок А. В., Аношенко Б. Ю., Титок В. В. Оценка генетической изменчивости белорусских популяций офрис насекомоносной (<i>Ophrys insectifera</i> L.) с использованием молекулярных iPBS маркеров	223
Фадеева Е. О. Особенности архитектуры микроструктуры первостепенного махового пера совообразных (Strigiformes), обусловленные спецификой полета (на англ. яз.)	232
Цеханович С. В. Опыт интродукции сортов хризантемы корейской (<i>Chrysanthemum coreanum</i>) украинской селекции в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси	247
Гаранович И. М., Блинковский Е. Д. Влияние щелочной вытяжки биогумуса на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений	253

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

CONTENTS

Baitchorov V. M., Giginyak Yu. G., Moroz M. D., Giginyak I. J., Korzun E. V. Change in ecological water quality of West Dvina River under the impact of urban waste water	135
Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Panteleev S. V., Baranov O. Yu. New data on the spread of the invasive species <i>Dothistroma septosporum</i> (Dorogin) M. Morelet in Belarus	147
Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Rybinskaya K. I., Olshanikova A. L., Yanchevskaya T. G., Viazau Ya. V., Kuryanchyk T. G., Savina S. M., Shalygo N. V. Effect of a complex preparation with inducers of resistance to pathogens on the infection of the potato (<i>Solanum tuberosum</i> L.) plants with virus X	159
Karaneuski R. I., Torchik U. I. Phenological rhythms of decorative forms of different species of firs (<i>Abies</i> Mill.) collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus	169
Sedun E. A., Abdirakhimova S. Sh., Zubarev A. V., Spiridovich E. V., Reshetnikov V. N., Sherimbetov S. G., Nazirova E. R. Features of seed growth and development of sproutings of the russian dereza (<i>Lycium ruthenicum</i> Murr.) under laboratory conditions and in culture <i>in vitro</i>	176
Kem K. R., Laman N. A., Kopylova N. A., Khrpach V. A. Phytohormonal activity of lactone-structure brassinosteroids under chemical stress in plants	186
Lapuka I. I., Vezhnavev V. V. Taxonomic structure of the zoobenthos of the Lukoml GRES cooling reservoir....	194
Deeva A. M., Vozechovskaia A. A., Spiridovich A. V., Reshetnikov V. N. The content of phenolic compounds in the leaves of <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr. and their antioxidant activity.....	205
Mandrusova V. S., Gordej I. S., Lyusikov O. M., Shimko V. E., Gordej I. A. Study of the gene pool of the winter rye <i>Secale cereale</i> L. of the Republic of Belarus using microsatellite markers	215
Samokhvalova N. V., Kruchonok A. V., Anoshenko B. Yu., Titok V. V. Evaluation of the genetic variability of <i>Ophrys insectifera</i> L. populations growing in Belarus using molecular iPBS markers	223
Fadeeva E. O. Features of the architectonics of the microstructure of the primary remex of Owls (Strigiformes) due to the specifics of the flight.....	232
Tsekhanovich S. V. Experience of introduction of <i>Chrysanthemum coreanum</i> varieties of Ukrainian breeding in Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus	247
Garanovich I. M., Blinkovskiy E. D. The impact of biohumus alkaline extract on growth and development of seedlings of ornamental woody plants	253

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 591.9(28):504.064.47:(282.247.23)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-135-146>

Поступила в редакцию 25.11.2020

Received 25.11.2020

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

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

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕКИ ЗАПАДНАЯ ДВИНА В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГОРОДСКИХ СТОЧНЫХ ВОД

Аннотация. В определении качества поверхностных вод и состояния водных экосистем, в первую очередь рек, наряду с физическим и химическим загрязнением все большее значение приобретает анализ гидробиологической составляющей. Целью работы являлась оценка экологического качества речных экосистем при сбросе сточных вод городов Витебск, Полоцк и Новополоцк в р. Западная Двина на основе изучения сообщества макрозообентоса.

В исследованных речных створах обитают редкие для Беларуси и охраняемые в Европе виды гидробионтов. Отмечена относительно высокая численность (от 30 до 80 %) реофильных видов Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera, которые представляют три самые приоритетные индикаторные группы гидробионтов. Определены биотические индексы и рассчитан класс чистоты воды р. Западная Двина. В соответствии с Водной рамочной директивой ЕС качество воды на изученных станциях можно отнести к классам с хорошей и высокой чистотой воды. Сделан вывод, что негативное воздействие сточных вод городов Витебск, Полоцк и Новополоцк имеет весьма локальное значение и оказывает слабое влияние на биоту и экологическое качество воды р. Западная Двина.

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

Для цитирования: Изменение экологического качества воды реки Западная Двина в результате воздействия городских сточных вод / В. М. Байчоров [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 135–146. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-135-146>

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

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

CHANGE IN ECOLOGICAL WATER QUALITY OF WEST DVINA RIVER UNDER THE IMPACT OF URBAN WASTE WATER

Abstract. In determining the quality of surface waters and, first of all, rivers, along with physical and chemical pollution, the analysis of the hydrobiological component of river ecosystems is becoming increasingly important. The aim of the work was to assess the ecological quality of the river ecosystems from the impact of wastewater discharge from the cities of Vitebsk, Polotsk and Novopolotsk on the Western Dvina River based on the macrozoobenthos community.

The studied river sections are inhabited by rare for Belarus and protected in Europe species of aquatic organisms. A relatively high abundance (from 30 to 80 %) of the group of rheophilic species Plecoptera, Ephemeroptera, and Trichoptera was noted, which represent the three highest priority indicator groups of aquatic organisms. Biotic indices and the water purity class of the r. Western Dvina were determined. In accordance with the EU Water Framework Directive, the water purity class at the studied stations has a good and high value. It is concluded that the negative impact of wastewater from the cities of Vitebsk, Polotsk and Novopolotsk has a very local significance and weakly affects the biota and the ecological quality of the water of the Western Dvina River already at a distance of 18 km. below the discharge of water from the treatment facilities of the Novopolotsk refinery.

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

For citation: Baitchorov V. M., Giginyak Yu. G., Moroz M. D., Giginyak I. J., Korzun E. V. Change in ecological water quality of West Dvina River under the impact of urban waste water. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 135–146 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-135-146>

Введение. Западная Двина является трансграничной рекой и протекает по территории трех стран: России, Беларуси и Латвии. На территории Беларуси р. Западная Двина принимает сточные воды от таких индустриально развитых городов, как Витебск, Полоцк и Новополоцк. Сброс

сточных вод Новополоцкого нефтеперерабатывающего завода (НПЗ) осуществляется в пределах 80-километровой зоны от государственной границы Беларусь – Латвия.

Традиционно качество поверхностных вод определялось гидрофизическими и гидрохимическими показателями – предельно допустимой концентрацией и предельно допустимым выбросом. Определение этих показателей не дает ответа на вопрос об экологическом состоянии водных экосистем, в то время как применение биологического подхода позволяет напрямую оценить экологическое качество при воздействии загрязняющих веществ.

Долгое время для оценки качества воды биологический подход был основан на использовании сапробной валентности вида индикатора [1–6]. Однако она применима только в случае значимого преобразования биотопа и мало эффективна при фоновых значениях гидрофизических и гидрохимических показателей. Поэтому в настоящее время все чаще используются индексы биологического разнообразия [7, 8]. Так, например, в Беларуси для оценки качества речных экосистем применяют модифицированный индекс Вудивисса [9], который сочетает показательные качества организмов-индикаторов и значения биологического разнообразия (количество таксономических групп макрозообентосного сообщества).

Несмотря на достаточно большое количество гидробиологических исследований речных экосистем Беларуси [10–14], практически отсутствует биоиндикационная оценка изменения экологического качества поверхностных вод в результате сброса сточных вод и поверхностного стока горячих точек (городов) на речные экосистемы по принципу «вверх – вниз по течению».

Цель работы – определение экологического качества речных экосистем в результате воздействия горячих точек «Витебск водоканал» и «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» на экологическое качество р. Западная Двина по принципу «вверх – вниз по течению» на основе биоиндикационной оценки макрозообентоса.

Задачи исследования: определение видового состава таксономических групп макрозообентоса, расчет биотических индексов и класса чистоты речных экосистем в результате воздействия городских сточных вод, включая Новополоцкий НПЗ.

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

Материалы и методы исследования. Материалом для настоящей работы послужил комплекс макрозообентоса речных экосистем р. Западная Двина. Был определен состав макрозообентоса на 13 станциях отбора проб для 17 таксономических групп, используемых при расчете модифицированного индекса Вудивисса в соответствии с ТКП «Правила определения экологического (гидробиологического) статуса речных экосистем» [9]. Полевые исследования были выполнены весной 2017 г.

Отбор гидробиологических проб. Отбор проб осуществляли методом траления в прибрежной части реки при помощи стандартного гидробиологического сачка. Методика отбора проб проведена согласно Европейскому протоколу AQEM и стандарту ISO 7828. Кроме того, на каменистых грунтах и в местах развития макрофитов производили выемку камней и коряг с их последующим осмотром и отбором животных. Отобранные пробы макрозообентосных объектов фиксировали 96 %-ным спиртом.

Расчет биотических индексов. Для биологического анализа загрязненных вод по составу донных животных наиболее простым и достаточно удобным представляется разработанный для р. Трент в Англии метод Вудивисса [8], основанный на уменьшении разнообразия фауны в условиях загрязнения и на характерной последовательности исчезновения из водоема разных групп животных по мере увеличения загрязнения. Используемый нами модифицированный биотический индекс Вудивисса [9] предполагает сбор только качественных проб, без учета обилия животных, и допускает определение животных до уровня таксономических групп, которые являются основными индикаторами экологического качества водных экосистем. В связи с тем что алгоритмы расчета индекса Вудивисса в разных литературных источниках различаются, нами приводится матрица для расчета модифицированного биотического индекса Вудивисса (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Расчет модифицированного биотического индекса Вудивисса (Extended biotic index) согласно ТКП «Правила определения экологического (гидробиологического) статуса речных экосистем» [9]

T a b l e 1. Calculation of the Extended biotic index according to the TCP “Rules for determining the ecological (hydrobiological) status of river ecosystems” [9]

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

Как видно из табл. 1, самые высокие биоиндикационные свойства у представителей групп Плесоптерa (веснянки), Ephemeroptera (поденки), Trichoptera (ручейники).

Существует много систем оценки качества поверхностных вод. В табл. 2 интеркалибровка значений индекса Вудивисса, характеристика и цветовое отображение класса чистоты воды приведены в соответствии с системой, применяемой в Беларуси, и системой, приближенной к рекомендациям Водной рамочной директивы ЕС.

Т а б л и ц а 2. Система оценки качества воды (национальная и по рекомендациям Водной рамочной директивы ЕС [9, 15, 16]) на основе модифицированного биотического индекса Вудивисса

T a b l e 2. The water quality assessment system (national and according to the recommendations of the EU water framework directive [9, 15, 16]) based on the Extended biotic index

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

Результаты и их обсуждение. Горячая точка «Витебск водоканал». Идентификация видового состава макрозообентоса для оценки экологического качества воды р. Западная Двина от воздействия горячей точки «Витебск водоканал» была выполнена для 5 станций отбора проб (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп макрозообентоса для расчета значений модифицированного индекса Вудивисса на станциях отбора проб горячей точки «Витебск водоканал»

T a b l e 3. The species composition and identification level of taxonomic groups of macrozoobenthos for calculating the values of the Extended biotic Index at sampling stations of the “Vitebsk vodokanal” hot spot

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе				
	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ст. 5
1. Nematoda (до класса)	–	–	–	–	–
2. Tricladidae (до рода)	–	–	–	–	–
3. Oligochaeta (без Naididae) (до класса)					
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)	3	–	–	–	1
<i>Oligochaeta gen. spp.</i>	–	3	32	12	10

Продолжение табл. 3

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе				
	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ст. 5
4. Naididae (до семейства)	–	–	–	–	–
5. Hirudinea (до рода)					
<i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	1	–	–
<i>Glossiphonia heteroclita</i> (Linnaeus, 1761)	–	–	–	1	–
<i>Piscicola geometra</i> (Linnaeus, 1761)	–	–	–	–	1
<i>Hemiclepsis marginata</i> (O. F. Müller, 1774)	–	–	–	1	–
6. Mollusca (до рода)					
<i>Viviparus viviparus</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	27	–
<i>Lithoglyphus naticoides</i> (Pfeiffer, 1828)	–	–	–	301	–
<i>Galba truncatula</i> (O. F. Müller, 1774)	–	–	–	–	1
<i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	1
<i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	1	1
7. Crustacea (до рода)					
<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	4	–	–
8. Hydrachnidae (до семейства)					
Hydrachnidae gen. spp.	–	–	2	3	–
9. Megaloptera (до рода)	–	–	–	–	–
10. Odonata (до рода)					
<i>Calopteryx virgo</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	3	1
<i>Coenagrion pulchellum</i> (Vander Linden, 1825)	–	–	–	–	2
<i>Coenagrion</i> sp.	–	–	–	–	2
<i>Erythromma najas</i> (Hansemann, 1823)	–	–	–	–	1
11. Plecoptera (до рода)					
<i>Siphonoperla burmeisteri</i> (Pictet, 1841)	–	3	4	–	1
<i>Nemoura cinerea</i> (Retzius, 1783)	7	4	4	4	1
12. Ephemeroptera (до рода), за исключением сем. Baetidae и Caenidae					
<i>Siphonurus aestivalis</i> (Eaton, 1903)	9	99	24	3	62
<i>Potamanthus luteus</i> (Linnaeus, 1767)	–	–	–	1	–
<i>Heptagenia fuscogrisea</i> (Retzius, 1783)	21	8	2	1	11
<i>Heptagenia</i> sp.	2	–	–	–	–
<i>Leptophlebia marginata</i> Linnaeus, 1767	10	5	–	2	5
<i>Leptophlebia vespertina</i> (Linnaeus, 1767)	–	–	1	–	–
<i>Ephemerella ignita</i> (Poda, 1761)	–	–	1	–	–
13. Heteroptera (до рода)					
<i>Notonecta glauca</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	1	–	–
<i>Aphelocheirus aestivalis</i> (Fabricius, 1794)	–	–	1	–	–
<i>Gerris lacustris</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	1
<i>Gerris odontogaster</i> (Zetterstedt, 1828)	–	–	1	–	–
14. Lepidoptera (до рода)	–	–	–	–	–
15. Coleoptera (до рода)					
<i>Laccophilus hyalinus</i> (De Geer, 1774)	2	–	–	–	–
<i>Macronychus quadrituberculatus</i> (Müller, 1806)	–	–	–	1	–
<i>Oulimnius</i> sp.	–	–	–	1	–
<i>Elmidae</i> gen. spp.	–	2	1	–	–
16. Trichoptera , сем. Baetidae и Caenidae (до рода)					
<i>Baetis digitatus</i> Bengtsson, 1912	57	149	89	57	19
<i>Baetis rhodani</i> (Pictet, 1845)	–	–	17	–	–
<i>Baetis vernus</i> Curtis, 1834	301	43	986	19	4
<i>Cloeon simile</i> Eaton, 1870	2	–	3	–	–
<i>Centroptilum luteolum</i> (Müller, 1776)	359	421	37	416	41
<i>Caenis horaria</i> Linnaeus, 1758	–	–	–	2	2
<i>Caenis macrura</i> Stephens, 1835	–	–	–	1	–

Окончание табл. 3

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе				
	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ст. 5
<i>Hydropsyche angustipennis</i> (Curtis, 1834)	—	—	1	—	—
<i>Anabolia</i> sp.	3	8	1	—	—
<i>Limnephilus fuscinervis</i> (Zetterstedt, 1840)	—	1	—	—	—
<i>Limnephilus rhombicus</i> (Linnaeus, 1758)	1	—	1	—	—
<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873	1	2	1	—	—
<i>Oxyethira</i> sp.	2	1	—	—	—
<i>Hydroptila</i> sp.	2	—	4	—	—
17. Diptera (до семейства)					
<i>Centropogonidae</i> gen. spp.	2	—	—	1	—
<i>Chironomidae</i> gen. spp.	13	4	4	24	9
<i>Simuliidae</i> gen. spp.	1	2	133	—	—

Примечание. Здесь и в табл. 4: станция 1 – д. Лужесно, 16,5 км выше сброса; станция 2 – г. Витебск, 0,7 км выше сброса; станция 3 – г. Витебск, 0,32 км ниже сброса; станция 4 – г. Витебск, заказник «Чертова борода», 3,9 км ниже сброса; станция 5 – д. Будилово, 37,8 км ниже сброса.

Проведенные исследования окрестностей г. Витебск позволили выявить 53 таксона представителей макрозообентосного и плейстонного комплексов водных животных, относящихся к трем типам беспозвоночных: Mollusca – 5 видов; Annelida – 6, Arthropoda – 42 вида.

В целом, в районе исследований отмечена достаточно высокая численность группировки реофильных видов (Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera) – 84,4 % от всех выявленных водных беспозвоночных. В то же время относительная численность в пробах так называемых видов переработчиков – малощетинковых червей (*Oligochaeta* gen. spp.) и комаров звонцов (*Chironomidae* gen. spp.) – составила только 1,5 и 1,4 % соответственно. Наибольшая численность этих групп гидробионтов отмечена на станции 3 сразу после сброса сточных вод. Высокая численность реофильных видов и низкая малощетинковых червей и двукрылых насекомых указывают на достаточно высокое качество воды р. Западная Двина в пределах г. Витебск.

Среди выявленных водных беспозвоночных животных наибольший интерес представляют находка на станциях 2, 3 и 5 личинок редкого вида веснянки – *Siphonoperla burmeisteri* (Pictet, 1841), и находка на станции 4 (заказник «Чертова борода») вида вселенца – моллюска *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828).

Веснянка *Siphonoperla burmeisteri* (сем. Siphonuridae) ранее была отмечена только в пяти точках на территории Беларуси [17]. Этот вид встречается в Скандинавии, Финляндии, Польше, Литве, а на восток распространен до Урала [18]. Личинки обитают в быстрых реках и крупных ручьях, на севере – в озерах, но не поднимаются выше субальпийской зоны в горах. Данный вид относится к арктическим видам, проникшим дальше на юг во время оледенений [19]. Вид включен в Красный список Эстонии [20].

Моллюск *Lithoglyphus naticoides* (сем. Hydrobiidae) занимал обширный ареал в пресноводных водоемах от Западной Европы до Западной Сибири [21, 22].

Моллюск *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758) [23] включен в Красный лист Чешской Республики.

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

Таблица 4. Экологическое качество воды р. Западная Двина в результате воздействия горячей точки «Витебск водоканал»

Table 4. Ecological water quality of the West Dvina River from the impact of the “Vitebsk vodokanal” hot spot

№ ст.	Координаты	Pl	Eph	Tr	N	EBI	Класс чистоты (качество воды)
1	55°14'54.41"С 30° 7'58.01"В	1	3	8	18	7	2 (хорошее)

Окончание табл. 4

№ ст.	Координаты	Pl	Eph	Tr	N	EVI	Класс чистоты (качество воды)
2	55° 9'45.58"C 30° 8'0.36"B	2	3	6	15	8	1 (высокое)
3	55° 9'28.31"C 30° 7'10.99"B	2	4	8	24	9	1 (высокое)
4	55° 9'52.90"C 30° 4'13.53"B	1	4	3	20	7	2 (хорошее)
5	55° 6'42.87"C 29°43'5.80"B	2	3	3	18	8	1 (высокое)

П р и м е ч а н и е. Таксономические группы: Pl – Plecoptera, Eph – Ephemeroptera, Tr – Trichoptera, N – общее количество таксономических групп, EVI – модифицированный индекс Вудивисса. То же в табл. 6.

Из табл. 4 видно, что по экологическому качеству вода р. Западная Двина относится к классам чистоты 1, 2 как до, так и непосредственно после сброса сточных вод (станция 3), а также на удалении до 40 км от места сброса (станция 5). Таким образом, сточные воды г. Витебск не оказывают выраженного отрицательного влияния на р. Западная Двина.

Горячая точка «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ». Сточные воды городов Полоцк, Новополоцк, а также Новополоцкого НПЗ имеют единую систему очистки и сброса сточных вод, которая осуществляется через сбросной коллектор Новополоцкого НПЗ. Поэтому оценка видового состава гидробионтов и качества воды р. Западная Двина была выполнена в границах речного континуума на протяжении 50-километрового участка, включающего воды городов Полоцк, Новополоцк и Новополоцкого НПЗ и прилегающие выше и ниже по течению участки реки (30 км выше и 20 км ниже сбросного коллектора Новополоцкого НПЗ).

Идентификация видового состава макрозообентоса для оценки экологического качества воды р. Западная Двина от воздействия горячей точки «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» была выполнена для 8 станций отбора проб (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп макрозообентоса для расчета значений модифицированного индекса Вудивисса на станциях отбора проб горячей точки «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ»

Table 5. The species composition and identification level of taxonomic groups of macrozoobenthos for calculating the values of the Extended biotic Index at sampling stations of the “Polotsk vodokanal – Novopolotsk oil refinery” hot spot

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе							
	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ст. 5	Ст. 6	Ст. 7	Ст. 8
1. Nematoda (до класса)	–	–	–	–	–	–	–	–
2. Tricladidae (до рода)	–	–	–	–	–	–	–	–
3. Oligochaeta (без Naididae) (до класса)								
Stylaria lacustris (Linnaeus, 1767)	–	12	1	–	–	1	4	–
Oligochaeta gen. spp.	19	86	14	13	16	45	–	6
4. Naididae (до семейства)	–	–	–	–	–	–	–	–
5. Hirudinea (до рода)								
Piscicola geometra (Linnaeus, 1761)	–	1	–	–	–	–	–	–
6. Mollusca (до рода)								
Theodoxus fluviatilis (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	–	–	1	–
Viviparus viviparus (Linnaeus, 1758)	–	16	–	3	–	2	2	–
Lithoglyphus naticoides (Pfeiffer, 1828)	–	3	7	51	–	12	–	14
Galba truncatula (O. F. Müller, 1774)	–	–	1	–	–	–	–	–
Lymnaea stagnalis (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–	–	1	–	–
Radix balthica (Linnaeus, 1758)	–	1	–	–	9	–	–	–
Stagnicola corvus (Gmelin, 1791)	–	–	–	–	–	1	–	–
7. Crustacea (до рода)								
Asellus aquaticus (Linnaeus, 1758)	–	1	1	–	–	–	–	–
Gammarus varsoviensis (Jazdzewski, 1975)	2	–	–	–	2	–	2	–

Продолжение табл. 5

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе							
	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ст. 5	Ст. 6	Ст. 7	Ст. 8
8. Hydrachnidae (до семейства)	–	–	–	–	–	2	–	–
9. Megaloptera (до рода)	–	–	–	–	–	–	–	–
10. Odonata (до рода)								
<i>Calopteryx virgo</i> (Linnaeus, 1758)	1	1	2	–	5	–	–	5
<i>Calopteryx splendens</i> (Harris, 1782)	–	–	–	–	–	–	3	16
<i>Coenagrion pulchellum</i> (Vander Linden, 1825)	–	–	–	–	2	1	–	1
<i>Coenagrion</i> sp.	–	–	–	–	–	1	–	–
<i>Erythromma najas</i> (Hansemann, 1823)	–	–	–	–	–	–	2	–
<i>Platycnemis pennipes</i> (Pallas, 1771)	–	–	–	–	1	2	8	16
<i>Gomphus vulgatissimus</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	–	–	1	–
11. Plecoptera (до рода)								
<i>Siphonoperla burmeisteri</i> (Pictet, 1841)	4	–	–	1	–	–	–	–
<i>Nemoura cinerea</i> (Retzius, 1783)	–	–	–	1	–	–	1	–
12. Ephemeroptera (до рода), за исключением сем. Baetidae и Caenidae								
<i>Siphonurus aestivalis</i> (Eaton, 1903)	–	22	10	1	1	4	8	–
<i>Leptophlebia marginata</i> Linnaeus, 1767	2	2	1	–	7	5	2	–
<i>Heptagenia fuscogrisea</i> (Retzius, 1783)	–	–	4	2	1	–	2	1
<i>Heptagenia</i> sp.	–	–	–	1	–	–	–	4
13. Heteroptera (до рода)								
<i>Sigara falleni</i> (Fieber, 1848)	1	–	–	–	–	3	6	–
<i>Sigara striata</i> (Linnaeus, 1758)	1	1	–	–	–	–	–	–
<i>Ilyocoris cimicoides</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	–	–	1	–	1
<i>Aphelocheirus aestivalis</i> (Fabricius, 1794)	–	–	–	1	–	–	–	1
<i>Hesperocorixa sahlbergi</i> (Fieber, 1848)	–	–	–	–	–	1	–	–
<i>Gerris argentatus</i> Schummel, 1832	–	–	–	1	–	–	–	–
<i>Gerris lacustris</i> (Linnaeus, 1758)	–	–	–	1	1	–	2	1
14. Lepidoptera (до рода)	–	–	–	–	–	–	–	–
15. Coleoptera (до рода)								
<i>Haliplus</i> sp.	–	–	–	–	1	–	–	1
<i>Peltodytes caesus</i> (Duftschmid, 1805)	–	–	–	–	–	1	–	–
<i>Laccophilus hyalinus</i> (De Geer, 1774)	7	1	–	–	1	9	–	–
<i>Helochaeres obscurus</i> (Müller, 1776)	–	–	–	–	–	–	1	1
<i>Oulimnius</i> sp.	1	–	–	–	–	3	13	–
16. Trichoptera , сем. Baetidae и Caenidae (до рода)								
<i>Baetis digitatus</i> Bengtsson, 1912, сем. Baetidae	–	–	–	6	–	–	–	7
<i>Baetis vernus</i> (Curtis, 1834), сем. Baetidae	–	12	11	33	–	–	40	42
<i>Cloeon simile</i> (Eaton, 1870), сем. Baetidae	3	4	–	–	–	–	3	1
<i>Centroptilum luteolum</i> (Müller, 1776), сем. Baetidae	–	4	2	3	2	1	2	1
<i>Caenis horaria</i> (Linnaeus, 1758), сем. Caenidae	–	1	1	1	–	–	3	–
<i>Caenis macrura</i> (Stephens, 1835), сем. Caenidae	–	–	–	–	–	–	2	–
<i>Anabolia</i> sp.	2	–	–	2	–	1	1	1
<i>Limnephilus borealis</i> (Zetterstedt, 1840)	–	–	–	–	–	–	–	1
<i>Limnephilus politus</i> McLachlan, 1865	–	–	–	–	–	1	–	–
<i>Limnephilus rhombicus</i> (Linnaeus, 1758)	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Agraylea</i> sp.	–	1	1	–	–	–	4	–
<i>Hydroptila</i> sp.	–	2	2	1	–	1	6	1
<i>Ithytrichia lamellaris</i> Eaton, 1873	–	–	–	–	–	–	2	1
<i>Oxyethira</i> sp.	–	–	–	–	–	–	1	1
17. Diptera (до семейства)								
<i>Centropogonidae</i> gen. spp.	1	4	–	6	–	19	1	–

Окончание табл. 5

Видовой состав и уровень идентификации таксономических групп	К-во особей в пробе							
	Ст. 1	Ст. 2	Ст. 3	Ст. 4	Ст. 5	Ст. 6	Ст. 7	Ст. 8
<i>Chironomidae gen. spp.</i>	11	88	12	31	12	68	4	8
<i>Limoniidae gen. spp.</i>	–	–	–	2	–	2	1	1
<i>Simuliidae gen. spp.</i>	–	–	–	–	–	–	36	7

Примечание. Здесь и в табл. 6: станция 1 – д. Слобода, 5 км выше г. Полоцка, 29,2 км выше сброса; станция 2 – д. Чернешино, 5 км ниже г. Полоцка, 18,3 км выше сброса; станция 3 – г. Новополоцк, 14,0 км выше сброса; станция 4 – д. Шнитки, 7,7 км выше сброса; станция 5 – д. Тюльки, 1,1 км ниже сброса; станция 6 – д. Венцево, 3,2 км ниже сброса; станция 7 – д. Рубаново, 10,3 км ниже сброса; станция 8 – д. Дисна, 17,6 км ниже сброса.

Проведенные исследования на участках выше и ниже г. Полоцк позволили выявить в р. Западная Двина 29 таксонов представителей макрозообентосного и плейстонного комплексов водных животных, относящихся к трем типам беспозвоночных: Mollusca – 4 вида; Annelida – 3, Arthropoda – 22 вида и формы.

На участках как выше, так и ниже г. Полоцк отмечена относительно высокая численность группировки реофильных видов (Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera).

Обращает на себя внимание факт доминирования на станции 2, расположенной ниже г. Полоцк, видов переработчиков, таких как малощетинковые черви (*Oligochaeta gen. spp.*) и комары звонцы (*Chironomidae gen. spp.*), – более 36 и более 30 % соответственно.

Среди выявленных водных беспозвоночных животных, как и для горячей точки «Витебск водоканал», наибольший интерес представляет находка личинок редкого вида веснянки *Siphonoperla burmeisteri* (Pictet, 1841), вида моллюска *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828) и охраняемого в Чешской Республике вида моллюска *Viviparus viviparus* (Linnaeus, 1758).

В ходе исследований, проведенных по принципу «вверх – вниз по течению», в зоне влияния г. Новополоцк на р. Западная Двина выявлено 56 таксонов представителей макрозообентосного и плейстонного комплексов водных животных, относящихся к трем типам беспозвоночных: Mollusca – 7, Annelida – 2 и Arthropoda – 47 видов и форм (табл. 5). Отмеченная относительно высокая численность группы реофильных видов (Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera) – 31,1 % от всех выявленных водных беспозвоночных, очевидно, указывает на достаточно высокое качество воды р. Западная Двина в районе г. Новополоцк. Причем представители Plecoptera встречались и после сброса сточных вод.

В целом в зоне влияния г. Новополоцк по сравнению с зоной влияния г. Полоцк отмечено снижение относительной численности малощетинковых червей (*Oligochaeta gen. spp.*) – до 12,7 % и комаров звонцов (*Chironomidae gen. spp.*) – до 17,1 %. Численность олигохет и личинок хирономид была наиболее высокой на станции 6 возле д. Венцево, расположенной ниже сброса сточных вод.

Как и для г. Полоцка, среди выявленных водных беспозвоночных животных наибольший интерес представляет находка личинок редкого вида веснянки *Siphonoperla burmeisteri* (Pictet, 1841) и моллюска *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828), что выглядит естественным ввиду близкого расположения станций отбора проб.

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

Таблица 6. Экологическое качество воды р. Западная Двина при воздействии горячей точки «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ»

Table 6. Ecological water quality of the West Dvina River from the impact of the “Polotsk vodokanal – Novopolotsk oil refinery” hot spot

№ ст.	Координаты	Pl	Eph	Tr	N	EVI	Класс чистоты (качество воды)
1	55°27'47.05"C 28°52'19.36"B	1	1	3	15	7	2 (хорошее)
2	55°29'58.24"C 28°43'8.20"B	0	2	6	19	7	2 (хорошее)

Окончание табл. 5

№ ст.	Координаты	Pl	Eph	Tr	N	EBI	Класс чистоты (качество воды)
3	55°31'50.13"C 28°40'55.39"B	0	3	5	14	7	2 (хорошее)
4	55°33'39.20"C 28°36'1.47"B	2	2	5	24	8	1 (высокое)
5	55°31'40.87"C 28°29'14.95"B	0	3	1	14	7	2 (хорошее)
6	55°31'53.83"C 28°27'26.07"B	0	2	4	24	8	1 (высокое)
7	55°32'37.11"C 28°21'25.83"B	1	3	9	29	9	1 (высокое)
8	55°33'23.81"C 28°15'2.32"B	0	1	8	23	7	2 (хорошее)

Из табл. 6 видно, что экологическое качество воды р. Западная Двина остается на хорошем и высоком уровнях класса чистоты как непосредственно после сброса сточных вод (станция 5) и в зоне влияния городов Полоцк и Новополоцк, так и на удалении до 30 и 20 км выше и ниже сброса соответственно. Таким образом, сточные воды горячей точки «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» не оказывают выраженного отрицательного влияния на р. Западная Двина.

Заключение. Идентификация видового состава макрозообентоса р. Западная Двина показала, что среди выявленных водных беспозвоночных животных на станциях отбора проб в зоне влияния обеих горячих точек «Витебск водоканал» и «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» наибольший интерес представляют редкий вид веснянки – *Siphonoperla burmeisteri* (Pictet, 1841) и вид вселенца – моллюск *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828), которые на территории Беларуси известны только по малочисленным находкам.

Несмотря на некоторые различия в закономерностях динамики численности и распределения индикаторных групп макрозообентоса на исследованных горячих точках «Витебск водоканал» и «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» р. Западная Двина, сохраняются общие тенденции в реакции водного сообщества беспозвоночных животных на сброс городских сточных вод.

Как в зоне влияния горячей точки «Витебск водоканал», так и в зоне влияния горячей точки «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» отмечена достаточно высокая численность группы реофильных видов (Plecoptera, Ephemeroptera и Trichoptera), достигающая на отдельных станциях до 80 % от всех выявленных водных беспозвоночных. Причем представители Plecoptera – самой приоритетной индикаторной таксономической группы – встречались как до, так и сразу после сброса сточных вод. Это указывает на достаточно высокое качество воды р. Западная Двина в районе влияния обеих горячих точек.

На станциях отбора проб, расположенных ниже сброса сточных вод, как в зоне влияния горячей точки «Витебск водоканал», так и в зоне влияния горячей точки «Полоцк водоканал – Новополоцк НПЗ» доминировали так называемые виды переработчиков – малощетинковые черви и комары звонцы, которые характеризуют загрязнение поверхностных вод промышленными отходами.

На всех станциях отбора проб отмечались высокие значения модифицированного биотического индекса Вудивисса и высокий класс чистоты воды р. Западная Двина как до сброса сточных вод, так и непосредственно после сброса. Незначительные различия между видовым богатством и численностью разных экологических групп макрозообентоса можно объяснить не столько влиянием сточных вод, сколько сменой сообществ гидробионтов вдоль течения реки в соответствии с изменением физических факторов согласно теории речного континуума [24].

На основании полученных результатов можно считать, что воздействие сточных вод городов Витебск, Полоцк и Новополоцк, включая Новополоцкий НПЗ, имеет весьма локальное значение и слабо воздействует на экологическое качество воды р. Западная Двина. Учитывая близость расположения г. Новополоцк к латышской границе, следует отметить отсутствие угроз трансграничного характера качеству воды р. Западная Березина с белорусской стороны. Следует отметить,

что аналогичная ситуация наблюдалась при изучении влияния горячих точек «Столбцы водоканал», «Гродно водоканал» на экологическое качество воды р. Неман и горячей точки «Вилейка водоканал» на экологическое качество воды р. Вилия вблизи литовской границы [25].

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

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

Список использованных источников

1. Hassal, A. N. A microscopic examination of the water supplied to the inhabitants of London and the suburban districts / A. N. Hassal. – London : Samuel Highley, 1850. – 69 p.
2. Knopp, H. Ein neuer Weg zur Darstellung biologischer Vorfluteruntersuchungen, erläutert an einem Gutelangsschnitt des Maines / H. Knopp // Wasserwirtschaft. – 1954. – Jg. 45. – S. 9–15.
3. Knopp, H. Grundsätzliches zur Frage biologischer Vorfluterungen erläutert an einem Gutelangsschnitt des Mains / H. Knopp // Arch. Hydrobiol. – 1955. – Suppl. 22, Bd. 3/4. – S. 363–368.
4. Liebmann, H. Handbuch der Frischwasser und Adwasserbiologie / H. Liebmann. – Munich : R. Oldenburg, 1951. – Bd. 1. – 539 S.
5. Sládeček, V. System of water quality from the biological point of view / V. Sládeček. – Stuttgart : Schweizerbart, 1973. – 218 p.
6. Zelinka, M. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer / M. Zelinka, P. Marvan // Arch. Hydrobiol. – 1961. – Bd. 57, H. 3. – S. 389–407.
7. Shannon, C. E. A mathematical theory of communication / C. E. Shannon // Bell Syst. Tech. J. – 1948. – Vol. 27. – P. 379–423, 623–656. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
8. Woodiwiss, F. S. The biological system of stream classification used by the Trent River board / F. S. Woodiwiss // Chem. Ind. – 1964. – Vol. 11. – P. 443–447.
9. Охрана окружающей среды и природопользование. Аналитический контроль и мониторинг. Правила определения экологического (гидробиологического) статуса речных экосистем : ТКП 17.13-10-2013 (02120) (Рабочий проект, третья редакция). – Минск : Минприроды, 2017. – 13 с.
10. Байчоров, В. М. Экологическое качество воды трансграничных рек Полесского региона (Беларусь – Украина) / В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Проблемы Полесья : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, сентябрь 2016 г. – Минск, 2016. – С. 76–79.
11. Мороз, М. Д. Видовой состав водных беспозвоночных трансграничных водотоков между Беларусью и Литвой / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Природ. ресурсы. – 2017. – № 1. – С. 47–53.
12. Мороз, М. Д. Фауна водных беспозвоночных водотоков Национального парка «Беловежская пуща» / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Журн. БГУ. Биология. – 2017. – № 3. – С. 68–75.
13. Байчоров, В. М. Оценка экологического состояния речных экосистем от воздействия городских стоков на основе индикаторных групп макрозообентоса / В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Актуальные проблемы охраны животного мира в Беларуси и сопредельных регионах : материалы 1-й Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 15–18 окт. 2018 г. / ред.: А. В. Кулак [и др.]. – Минск, 2018. – С. 44–49.
14. Мороз, М. Д. Видовой состав водных беспозвоночных реки Вилия / М. Д. Мороз, В. М. Байчоров, Ю. Г. Гигиняк // Вест. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 401–408.
15. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Offic. J. Eur. Commun. – 2000. – L 327. – P. 1–72.
16. Водный кодекс Республики Беларусь [Электронный ресурс] // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <http://www.pravo.by/document/?guid=12551&p0=Hk1400149&p1=1>. – Дата доступа: 05.12.2019
17. Мороз, М. Д. Каталог поденок (Ephemeroptera), веснянок (Plecoptera) и ручейников (Trichoptera) Беларуси / М. Д. Мороз, Т. П. Липинская. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 315 с.
18. Жильцова, Л. А. Веснянки (Plecoptera) Европейской части СССР (без Кавказа) / Л. А. Жильцова // Энтомолог. обозрение. – 1966. – Т. 45, № 3. – С. 525–549.
19. Жильцова, Л. А. Материалы по фауне веснянок (Plecoptera) / Л. А. Жильцова // Тр. Зоол. Ин-та Акад. наук СССР. – 1962. – Т. 31. – С. 5–12.
20. Timm, H. Distribution of stoneflies (Insecta: Plecoptera) in Estonia / H. Timm // Proc. Estonia Acad. Sci. Biol. Ecol. – 2000. – Vol. 49, N 3. – P. 277–288.
21. Старобогатов Я. И. Фауна моллюсков и зоогеографическое районирование континентальных водоемов земного шара / Я. И. Старобогатов. – Л. : Наука, 1970. – 372 с.
22. Лаенко, Т. М. Фауна водных моллюсков Беларуси / Т. М. Лаенко. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 128 с.
23. Beran, L. Mollusca (měkkýši) / L. Beran, L. Juříčková, M. Horsák // Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí / eds. J. Farač, D. Král, M. Škorpík. – Praha, 2005. – P. 69–74.

24. The river continuum concept / R. L. Vannote [et al.] // Can. J. Fish. Aquatic Sci. – 1980. – Vol. 37, N 1. – P. 130–137.
25. Экологическое качество рек Неман и Вилия при воздействии городских сточных вод / В. М. Байчоров [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 16–29.

References

1. Hassal A. N. *A microscopic examination of the water supplied to the inhabitants of London and the suburban districts*. London, Samuel Highley, 1850. 69 p.
2. Knopp H. Ein neuer Weg zur Darstellung biologischer Vorfluteruntersuchungen, erläutert an einem Gutelangsschnitt des Maines. *Die Wasserwirtschaft*, 1954, Jg. 45, S. 9–15.
3. Knopp H. Grundsätzliches zur Frage biologischer Vorfluterungen erläutert an einem Gütelangsschnitt des Mains. *Archiv für Hydrobiologie*, 1955, Suppl. 22, Bd. 3/4, S. 363–368.
4. Liebmam H. *Handbuch der Frischwasser und Adwasserbiologie*. Bd. 1. Munich, R. Oldenburg, 1962. 539 S.
5. Sládeček V. *System of water quality from the biological point of view*. Stuttgart, Schweizerbart, 1973. 218 p.
6. Zelinka M., Marvan P. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. *Archiv für Hydrobiologie*, 1961, Bd. 57, H. 3, S. 389–407.
7. Shannon E. E. A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal*, 1948, vol. 27, pp. 379–423, 623–656. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
8. Woodiwiss F. S. The biological system of stream classification used by the Trent River board. *Chemistry and Industry*, 1964, vol. 11, pp. 443–447.
9. Environmental protection and nature management. Analytical control and monitoring. *Rules for determining the ecological (hydrobiological) status of river ecosystems*. Ministry of Natural Resources, TCP. 17.13-XX-201X (02120). Minsk, Ministry of Natural Resources and Environmental Protection, 2017. 13 p. (in Russian).
10. Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Ecological water quality of transboundary rivers of the Polesie region (Belarus – Ukraine). *Problemy Poles'ya: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, Minsk, sentyabr' 2016 goda* [Polesie Problems: Materials of the International Scientific and Practical Conference, Minsk, September 2016]. Minsk, 2016, pp. 76–79 (in Russian).
11. Moroz M. D., Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. The species composition of aquatic invertebrates of transboundary watercourses between Belarus and Lithuania. *Prirodnye resursy* [Natural resources], 2017, no. 1, pp. 47–53 (in Russian).
12. Moroz M. D., Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Fauna of aquatic invertebrate watercourses of the National Park “Belovezhskaya Pushcha”. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2017, no. 3, pp. 68–75 (in Russian).
13. Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Assessment of the ecological state of river ecosystems from the impact of urban runoff based on indicator groups of macrozoobenthos. *Aktual'nye problemy okhrany zhivotnogo mira v Belarusi i sopredel'nykh regionakh (Minsk, 15–18 oktyabrya 2018 goda)* [Current challenges in Belarus and adjacent regions wildlife protection: materials of the I International scientific and practical conference (Minsk, October 15–18, 2018)]. Minsk, 2018, pp. 44–49 (in Russian).
14. Moroz M. D., Baichorov V. M., Giginyak Yu. G. Fauna of aquatic invertebrates of the Viliya river. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 401–408 (in Russian).
15. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official Journal of the European Communities*, 2000, L 327, pp. 1–72.
16. The Water Code of the Republic of Belarus. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.pravo.by/document/?guid=12551&p0=Hk1400149&p1=1> (accessed 05.12.2019) (in Russian).
17. Moroz M. D., Lipinskaya T. P. Catalog of mayflies (Ephemeroptera), stoneflies (Plecoptera) and caddis flies (Trichoptera) of Belarus. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 315 p. (in Russian).
18. Zhil'tsova L. A. Vesnyanka (Plecoptera) of the European part of the USSR (without the Caucasus). *Entomological Review*, 1966, vol. 45, no. 3, pp. 525–549 (in Russian).
19. Zhil'tsova L. A. Materials on the fauna of Plecoptera. *Proceedings of the Zoological Institute of the USSR Academy of Sciences*, 1962, vol. 31, pp. 5–12 (in Russian).
20. Timm H. Distribution of stoneflies (Insecta: Plecoptera) in Estonia. *Proceedings of the Estonia Academy of Sciences. Biology and Ecology*, 2000, vol. 49, no. 3, pp. 277–288.
21. Starobogatov Ya. I. *Fauna of mollusks and zoogeographic zoning of continental water bodies of the globe*. Leningrad, Nauka Publ., 1970, p. 372 (in Russian).
22. Laenko T. M. *Fauna of aquatic mollusks of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 128 p. (in Russian).
23. Beran L., Juřičrová L., Horsák M. Mollusca (měkkýši) Červený seznam ohrožených druhů České republiky. *Bezobratlí*. Praha, 2005, pp. 69–74.
24. Vannote R. L., Minshall G. W., Cummins K. W., Sedell J. R., Cushing C. E. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1980, vol. 37, pp. 130–137.
25. Baichorov V. M., Giginyak Yu. G., Moroz M. D., Giginyak I. Yu., Korzun E. V. Environmental quality of Neman and Vilia Rivers under the influence of city wastewater. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 65, no. 1, pp. 16–29 (in Russian).

Информация об авторах

Байчоров Владимир Мухтарович – д-р биол. наук, заведующий сектором. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vbaitch@gmail.com

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

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

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

Корзун Егор Викторович – ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natrix109@gmail.com

Information about the authors

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

Yuri G. Giginyak – 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: antarctida_2010@mail.ru

Michael D. Moroz – 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: mdmoroz@bk.ru

Irina J. Giginyak – 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: i.giginyak@gmail.com

Egor V. Korzun – 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: natrix109@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 635.9:632.4+577.29

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-147-158>

Поступила в редакцию 21.10.2020

Received 21.10.2020

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

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

НОВЫЕ ДАННЫЕ О РАСПРОСТРАНЕНИИ ИНВАЗИВНОГО ВИДА *DOTHISTROMA SEPTOSPORUM* (DOROGIN) M. MORELET НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

Аннотация. Красная пятнистость хвой – одна из распространенных и вредоносных болезней сосны. Возбудители болезни – патогенные микромицеты *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet и *Dothistroma pini* Hulbary. На территории Беларуси красная пятнистость хвой впервые выявлена в 2012 г., и до настоящего времени сведения о распространенности болезни в республике являются фрагментарными.

В статье изложены результаты обследования деревьев различных видов сосны, проведенного в период с 2016 по 2020 г. в ботанических и дендрологических садах, лесных питомниках и мини-дендрариях при лесхозах, городских насаждениях, питомниках декоративных растений, садовых центрах на предмет пораженности красной пятнистостью хвой. Видовую идентификацию возбудителя болезни проводили микологическим и молекулярно-генетическими методами. Красная пятнистость хвой в ходе данного исследования выявлена на отдельных экземплярах *Pinus mugo*, *P. nigra* и *P. ponderosa* в насаждениях Центрального ботанического сада НАН Беларуси, дендрологического сада Глубокского опытного лесхоза, в питомниках декоративных растений Гродненской и Минской областей. В собранных образцах хвой выявлен и идентифицирован инвазивный вид *Dothistroma septosporum*. Частота встречаемости вида составила 4,8–7,2 %, доля пунктов наблюдений, в которых выявлен данный вид, – 60 %. Обнаружение красной пятнистости хвой на растениях сосны, в основном на ввозимом из-за рубежа посадочном материале, указывает на трансграничный способ проникновения вида *D. septosporum* в страну, а анализ литературных данных указывает на потенциальную опасность дотистромоза для сосновых насаждений в республике. Все это требует организации регулярного мониторинга заболевания и скорейшей разработки методов по ограничению распространения вида *D. septosporum* на территории республики.

Ключевые слова: сосна, инвазии, красная пятнистость хвой, *Dothistroma septosporum*, ДНК-баркодирование

Для цитирования: Новые данные о распространении инвазивного вида *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet на территории Беларуси / Л. А. Головченко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 147–158. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-147-158>

Liudmila A. Golovchenko¹, Natalia G. Dishuk¹, Stanislav V. Panteleev², Oleg Yu. Baranov²

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

²Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus

NEW DATA ON THE SPREAD OF THE INVASIVE SPECIES *DOTHISTROMA SEPTOSPORUM* (DOROGIN) M. MORELET IN BELARUS

Abstract. Red band needle blight, or *Dothistroma* needle blight is one of the most common and harmful diseases of pine. The causative agents of the disease are pathogenic micromycetes *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet and *Dothistroma pini* Hulbary. *Dothistroma* needle blight was firstly detected in Belarus in 2012 year, but till now information about this disease in the republic is fragmentary.

The article presents the results of a survey of different pine trees, carried out in the period 2016–2020 years in botanical and dendrological gardens, forest nurseries and mini-arboretums at forestry enterprises, urban stands, nurseries of decorative plants, garden centers, for the presence of *Dothistroma* needle blight. The species identification of the causative agent of the disease was carried out by mycological and molecular genetic methods. In this study, *Dothistroma* needle blight was revealed on individual trees of *Pinus mugo*, *P. nigra* and *P. ponderosa* in the stands of the Central Botanical Garden of the NAS of Belarus, the dendrological garden of the Glubokoe experimental forestry enterprise, in the nurseries of decorative plants in the Grodno and Minsk regions. In the collected samples of needles, the invasive species *Dothistroma septosporum* was identified. The frequency of occurrence of the pathogen was 4.8–7.2 %, the proportion of observation sites in which this disease was detected at 60 %. The detection of *Dothistroma* needle blight on pine trees, mainly on planting material imported from abroad, indicates a transboundary route of *D. septosporum* entering the country. Analysis of literature data indicates the potential danger of *Dothistroma* needle blight for pine stands in the republic, which in turn requires the organization of regular monitoring of the disease and the development of methods to limit the spread of *D. septosporum* in the republic.

Keywords: pine, plants diseases, alien invasive species, red band needle blight, *Dothistroma septosporum*, DNA barcoding

For citation: Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Panteleev S. V., Baranov O. Yu. New data on the spread of the invasive species *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet in Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 147–158 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-147-158>

Введение. Красная пятнистость хвой (дотистромоз) – одно из хозяйственно значимых инфекционных заболеваний хвойных растений, вызываемое грибами рода *Dothistroma*. Данное заболевание диагностировано более чем у 80 видов сосны, а также отмечено и для других хвойных пород семейства Pinaceae, включая пихту, кедр, лиственницу, ель, лжетсугу [1–3]. Среди сосен высокая восприимчивость к дотистромозу установлена для *Pinus nigra* J. F. Arnold, *P. mugo* Turra, *P. sylvestris* L., *P. radiata* D. Don и др. [3–5]. За последние десятилетия проблема мониторинга возникновения очагов дотистромоза приобрела особую актуальность, что обусловлено резким увеличением распространенности патогена и возникновением новых генотипов, характеризующихся большей вирулентностью и вредоносностью [3–5].

Первое описание возбудителя болезни (под названием *Cytosporina septospora* Dorogin) было представлено М. Дорогиным в 1910 г. – патоген выделен из хвой деревьев сосны горной, произраставших на северо-западе России [3]. В то же время наличие данного заболевания в Европе датируется еще более ранним сроком. Так, при анализе гербарного материала симптомы красной пятнистости хвой уже были отмечены для образцов, собранных в 1880 г. в Дании и в 1907 г. во Франции [3, 6]. Более массовое проявление дотистромоза описано в 1954 г. на *P. nigra* и *P. ponderosa* (Англия) и в 1955 г. на *P. nigra* (Сербия). Однако, несмотря на участвовавшие в указанный период случаи выявления возникающих очагов, вредоносность болезни оценивалась как низкая.

Первые сообщения об эпифитотийном развитии болезни в естественных и искусственных насаждениях сосны стали появляться начиная со второй половины XX в. В 1950–1960-е годы значительный ущерб красная пятнистость хвой нанесла насаждениям сосны лучистой (*Pinus radiata*) в странах Южного полушария [3]. Распространение патогенного гриба привело к сокращению площадей сосны лучистой в Южном полушарии, где болезнь и до настоящего времени продолжает оставаться значимым фактором, оказывающим негативное влияние на ведение лесного хозяйства. В европейских странах увеличение распространенности и вредоносности болезни было зафиксировано в начале 1990-х годов. В обзорной статье Дренхана с соавт. [3] указывается, что за последующий 25-летний период обследований очаги дотистромоза обнаружены уже в 35 европейских странах, что составляет половину от всего числа диагностированных вспышек болезни в мире. По данным лесопатологического мониторинга, красная пятнистость хвой уже получила широкое распространение в сопредельных с Беларусью странах – Литве, Латвии, Украине, России, Польше, что делает данную проблему для нашей республики особо актуальной [3, 5, 7–15].

Согласно современным представлениям, основными возбудителями красной пятнистости хвой сосны являются два вида грибов – *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet и *D. pini* Hulbary, ранее (до 2004 г.) считавшихся разными филогенетическими линиями одного вида [3, 16]. *D. septosporum* – космополитный вид, встречающийся в Европе, Америке, Азии, Африке, Австралии, – сопряжен с ареалами распространения широкого спектра растений-хозяев. Встречаемость второго вида (*D. pini*) менее значима и относится к центральной и северной части США, некоторым регионам Европы, включая Украину и Россию [1–3, 5, 7, 9–11, 16, 17]. В некоторых регионах Северного полушария ареалы обоих видов могут частично перекрываться, причем в значительном числе случаев *D. septosporum* и *D. pini* способны формировать смешанные инфекции в пределах отдельных зараженных деревьев [3].

Согласно данным литературы, симптомы проявления заболеваний, вызываемых грибами *D. septosporum* и *D. pini*, внешне сходны. Достоверная оценка приуроченности заболевания к виду *D. septosporum* или к виду *D. pini* может быть выполнена только на основании дополнительных информативных методов, лидирующая роль среди которых отводится молекулярно-генетическим маркерам [3–5, 16].

По имеющимся к настоящему времени данным фитопатологического мониторинга, на территории Беларуси красная пятнистость хвои впервые выявлена в 2012 г. [3, 15, 18]. Сведения о распространенности и вредоносности болезни в Беларуси являются фрагментарными, а сами исследования носят отрывочный характер [15, 18–22].

Учитывая прогрессирующее распространение болезни в Европе, включая сопредельные с Беларусью страны, а также высокую вредоносность дотистромоза в очагах его распространения, проведение фитопатологической оценки на предмет встречаемости и видовой этиологии красной пятнистости хвои в естественных и искусственных сосновых насаждениях на территории нашей страны является актуальным и имеет важную хозяйственную значимость.

Объекты и методы исследования. В период с 2016 по 2020 г. проведено фитопатологическое обследование деревьев, таксономически относящихся к 16 видам сосен: *Pinus sylvestris*, *P. sibirica*, *P. mugo*, *P. strobus*, *P. pallasiana*, *P. banksiana*, *P. nigra*, *P. peuce*, *P. ponderosa*, *P. pumila*, *P. rigida*, *P. cembra*, *P. korainensis*, *P. hamata*, *P. contorta*, *P. kochiana*. В случае обнаружения растений сосны с характерными для *Dothistroma* spp. симптомами поражения проводили детальное обследование, включая отбор материала для последующего микологического и молекулярно-генетического анализа в лабораторных условиях. В качестве фитопатологических образцов отбирали биологический материал хвои как с типичными для красной пятнистости симптомами, так и с иными вариантами изменения окраски, наличием пятнистости и некротических участков. Кроме того, дополнительно исследовали высохшую мертвую хвою на мутовках веток в составе опада под кронами деревьев. Для каждого дерева картировалось место его локализации.

В ходе фитопатологического обследования были изучены разные виды городских насаждений (линейные посадки, скверы, парки, территории, примыкающие к административным зданиям), питомники декоративных растений и садовые центры, поставляющие посадочный материал для озеленения городов и населенных пунктов, ботанические сады и дендропарки, занимающиеся активной интродукцией растений, лесные питомники и мини-дендрарии при лесхозах. Детальный перечень пунктов наблюдений и их месторасположение приведен в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Перечень месторасположения пунктов фитопатологического обследования

Table 1. List of phytopathological observation points

Вид насаждения	Месторасположение пункта наблюдения	Перечень обследованных объектов
Питомники декоративных растений и садовые центры	Минская область	ЧП «Красный клен», УП «Бровки» Минскзеленстрой
	Гродненская область	ФХ «Зеленый горизонт», ТООО «Фирма Верасень», ООО «Туя-парк», КФХ «Европлант»
	Гомельская область	ГП «Красная гвоздика»
Мини-дендрарии при лесхозах	Витебская область	ГЛХУ «Лепельский лесхоз»
	Минская область	ГЛХУ «Столбцовский лесхоз», ГЛХУ «Слуцкий лесхоз»
	Гродненская область	ГЛХУ «Новогрудский лесхоз», ГЛХУ «Лидский лесхоз», ГЛХУ «Щучинский лесхоз»
Лесные питомники	Брестская область	ГЛХУ «Ивацевичский лесхоз»
	Гродненская область	ГЛХУ «Гродненский лесхоз», ГЛХУ «Новогрудский лесхоз», ГЛХУ «Сморгонский лесхоз»
	Минская область	ГЛХУ «Столбцовский лесхоз», ГЛХУ «Слуцкий лесхоз», ГЛХУ «Минский лесхоз», ГЛХУ «Клецкий лесхоз», ГЛХУ «Копыльский лесхоз», ГЛХУ «Старобинский лесхоз»
Ботанические и дендрологические сады и парки	Минск и Минская область	ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Ботанический сад УО БГТУ
	Витебск и Витебская область	Ботанический сад УО «ВГУ им. П. М. Машерова», дендросад ГОЛХУ «Глубокский опытный лесхоз», дендропарк «Лужеснянский»
Городские насаждения	Минск, все областные города, районные центры республики	Парки, скверы, линейные посадки, территории, примыкающие к административным зданиям

Отобранные образцы анализировали в лаборатории защиты растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС НАН Беларуси) по общепринятым в фитопатологии и микологии методикам [23]. Частоту встречаемости возбудителя красной пятнистости хвои определяли как отношение количества проб, в которых был выявлен патоген, к общему количеству проанализированных проб [24].

Генетическую диагностику фитопатогенов на базе лаборатории геномных исследований и биоинформатики Института леса НАН Беларуси проводили на растительном материале, характеризующимся как наличием, так и отсутствием типичных симптомов дотистромоза. С этой целью были изучены образцы *P. mugo* и *P. nigra* из ЦБС НАН Беларуси (сбор 2017–2018 гг., координаты N53.915635°, E27.616022°) и питомника декоративных растений УП «Бровки» Минскзеленстроя (сбор 2019 г., координаты N54.0474°, E27.3859°).

Выделение ДНК из некротизированных тканей хвои выполняли с использованием СТАВ-метода [25]. В качестве маркера для видовой диагностики грибной микрофлоры применяли регион рДНК, включающий общепринятые баркодинговые маркеры – внутренние транскрибируемые спейсеры 1 и 2 (18S рДНК – BTC1 – 5,8S рДНК – BTC2 – 28S рДНК) [26]. ПЦР-амплификацию региона рДНК проводили с использованием праймеров ITS1F/ITS4 [27, 28] и набора DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific) при следующем температурном профиле: при 95 °C – 3 мин (1 цикл); при 95 °C – 30 с; при 55 °C – 20 с; при 72 °C – 45 с (35 циклов).

Для секвенирования ампликонов использовали генетический анализатор ABI Prism 310 (Thermo Fisher Scientific, США), для первичной обработки данных – программное обеспечение Sequencing Analysis 5.1.1, для видовой идентификации и сравнительного генетического анализа секвенированных нуклеотидных последовательностей грибов – базу данных Национального центра биотехнологической информации NCBI (США), включая использование сервиса BLAST и функции BLAST Tree View [29].

Результаты и их обсуждение. В период проведения наблюдений характерные симптомы красной пятнистости хвои впервые наблюдали летом 2016 г. на единичном старовозрастном дереве сосны горной, произрастающем в дендрологическом саду Глубокского опытного лесхоза. В последующие годы поражение дотистромозом было отмечено также в посадочном материале (саженцах) сосны горной, сосны черной, сосны желтой в питомниках декоративных растений частных предприятий Гродненской области, на единичном молодом растении сосны горной в ЦБС НАН Беларуси (саженец привезен из европейского питомника), в старовозрастных посадках сосны горной в питомнике декоративных растений Минскзеленстроя (рис. 1). У других обследованных видов сосен (включая сосну обыкновенную) поражения дотистромозом не отмечалось.

Общие черты заболевания были следующими: симптомы красной пятнистости отмечались на двух- и трехлетней хвое по всей кроне пораженных растений. Хвоя текущего года сохраняла зеленую окраску. На хвоинках появлялись светло-желтые пятна, которые увеличивались в размерах, приобретая рыжевато-бурую окраску с характерными красновато-малиновыми поперечными полосками. Цвет пораженных верхушек хвоинок постепенно изменялся на красно-кирпичный, при этом основания хвоинок оставались зелеными. После отмирания хвои красноватые пятна и полосы четко визуализировались, представляя собой видимый диагностический признак болезни.

В пораженных тканях, под эпидермисом хвои, формировались конидиомы коричневатого цвета, которые впоследствии прорывались наружу сквозь растрескивания эпидермиса хвоинки и становились хорошо видимыми на фоне красноватых пятен. Из них по мере созревания выделялась светлая слизистая масса конидий, которая зачастую была разделена на две части узким «ремешком» эпидермиса хвоинки. Конидии имели нитевидную или слегка изогнутую форму и были разделены (септированы) 1–3 перегородками.

В ходе микроскопирования биологического материала патогенов в собранных образцах был диагностирован микробиот *Dothistroma septosporum* – возбудитель красной пятнистости хвои сосны.

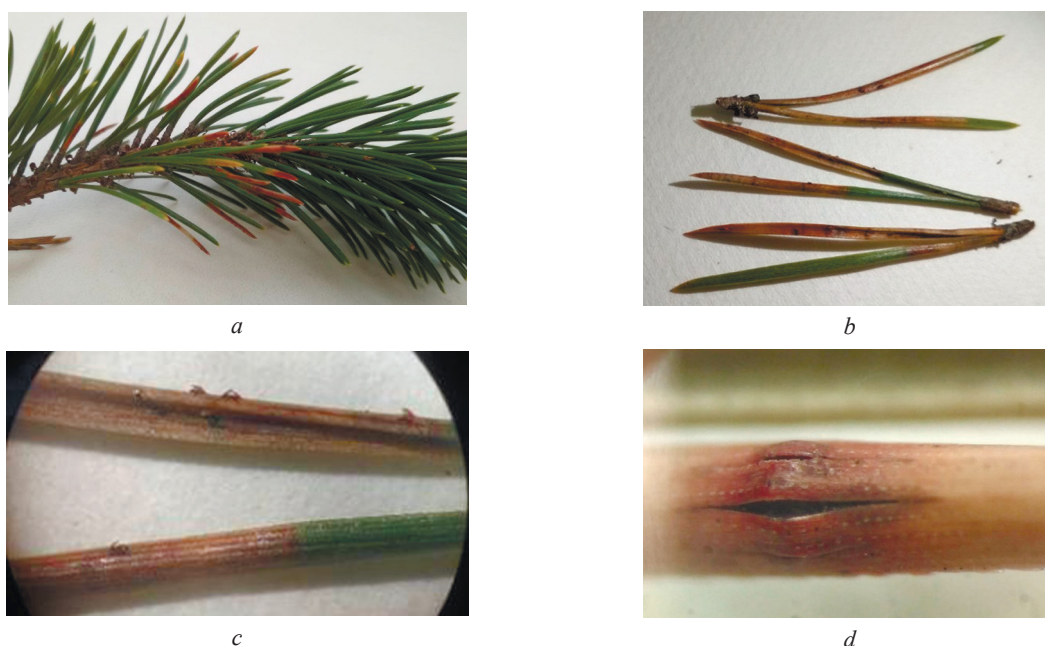


Рис. 1. Симптомы красной пятнистости хвои на сосне горной: *a, b* – характерное изменение окраски хвои; *c, d* – плононошения гриба *D. septosporum* под эпидермисом хвои и выступающие из его разрывов

Fig. 1. Dothistroma needle blight symptoms on *Pinus mugo*: *a* – infected shoots, *b* – red spots and necrotic bands on infected needles; *c, d* – fructifications of *D. septosporum* rupturing needle epidermis

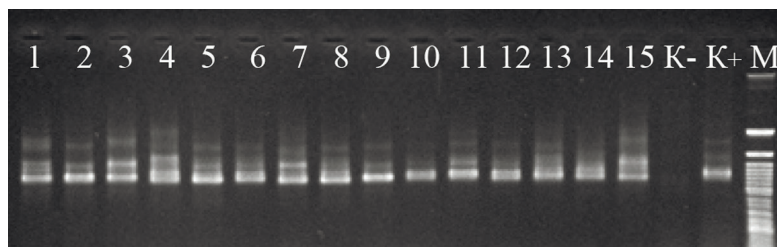


Рис. 2. Фрагмент ПЦР-спектра грибной инфекции в тканях хвои *P. mugo* и *P. nigra* (праймеры ITS1F/ITS4): 1–3, 7–15 – хвоя *P. mugo*; 4–6 – хвоя *P. nigra*; К–, К+ – отрицательный и положительный контроли ПЦР соответственно; М – маркер молекулярного веса (50–1350 п. н.)

Fig. 2. PCR-spectrum with ITS1F/ITS4 primers obtained for fungal species of pine needles *P. mugo* and *P. nigra*. Lanes: 1–3, 7–15 – *P. mugo*; 4–6 – *P. nigra*; K–, K+ – negative and positive PCR controls; M – molecular weight marker, DNA Ladder (50–1350 bp)

Анализ результатов молекулярно-генетических исследований образцов тканей хвои сосны горной и сосны черной (из ЦБС НАН Беларуси и питомника Минскзеленстроя) показал, что в основном спектр грибной инфекции был поливидовым и носил смешанный характер. Как видно из рис. 2, практически в каждом исследуемом образце отмечалось наличие генетического материала более чем одного вида грибов.

Сравнительная оценка секвенированных нуклеотидных последовательностей ампликонов в базе данных NCBI Nucleotide с использованием сервиса BLAST позволила верифицировать результаты микологического анализа – наличие фитопатогенного микромицета *D. septosporum*. Уровень содержания генетического материала *D. septosporum* в образцах хвои сосны горной в значительной степени превалировал над другими грибными видами, что указывало на ведущую роль патогена в формировании видовой структуры микрофлоры хвои. Однако моноинфекция *D. septosporum* была установлена лишь в единичном случае. Особенно следует отметить, что *D. septosporum* являлся основным компонентом микробиома хвои растений как с характерными симптомами дотистромоза, так и в инфицированных тканях без типичных признаков болезни.

С целью установления видовых комплексов с участием дотистромы в ходе исследований был идентифицирован перечень доминирующих видов микромицетов в микрофлоре *P. mugo* и *P. nigra* (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Перечень видов доминирующей грибной микрофлоры, генетически идентифицированных в хвое *P. mugo* и *P. nigra*

Table 2. List of genetically identified species of dominant fungal microflora in needles *P. mugo* and *P. nigra*

Вид фитопатогена	Растение-хозяин	Номер депозита NCBI
<i>Dothistroma septosporum</i> (Dorogin) M. Morelet	<i>P. mugo</i>	МК622273 (изолят СБГ), MW037196 (изолят Brovki)
<i>Cenangium ferruginosum</i> Fr.	<i>P. mugo</i>	MW041195
<i>Coniothyrium</i> sp. (вид отсутствует в базах NCBI и BOLD)	<i>P. mugo</i>	MW041162
<i>Cyclaneusma minus</i> (Butin) DiCosmo, Peredo & Minter	<i>P. mugo</i>	МК622796
<i>Lophodermium pinastri</i> (Schräd.) ex Fr.	<i>P. mugo</i> , <i>P. nigra</i>	–
<i>Neocatenulostroma germanicum</i> (Crous & U. Braun) Quaedvlieg & Crous	<i>P. nigra</i>	МК622897

Изучение литературных данных по вопросам, связанным с особенностями функционирования патосистем, содержащих *Dothistroma* spp., показал, что роль отдельных микромицетов и характер взаимоотношений между ними в большинстве случаев остаются невыясненными. Тем не менее, в значительном числе работ описано формирование видовых комплексов *Dothistroma* spp. с такими фитопатогенами, как *Sphaeropsis* (*Diplodia*) *sapinea*, *Gremmeniella abietina*, *Lophodermium pinastri*, *L. seditiosum*, *Cyclaneusma* spp., *Coleosporium* spp., *Neocatenulostroma* spp. и др. [3, 13, 30, 31]. По мнению авторов данных исследований, фитопатогенные комплексы грибов могут характеризоваться большей вредоносностью по сравнению с моноинфекциями, вызываемыми данными грибами по отдельности. Аддитивный характер взаимоотношений грибов в патосистемах, с точки зрения формирования симптомов, может вызывать появление новых или изменение типичных признаков заболевания, что усложняет постановку точного диагноза и в свою очередь делает затруднительным разработку оптимального алгоритма защитных мероприятий [3, 13, 30].

Влияние комплексного характера инфекций на особенности патогенеза нашло подтверждение и в ходе нашего исследования (табл. 2). Так, в 2018 г. на хвое сосны горной (произрастающей на территории ЦБС НАН Беларуси) с симптомами поражения инвазивным грибом *Cyclaneusma minus* при молекулярно-генетическом анализе помимо вышеупомянутого патогена был выявлен и гриб *D. septosporum*. В 2019 г. в хвое *P. mugo* из питомника декоративных растений Минскзеленстроя в доминирующей микрофлоре присутствовали патогены *D. septosporum*, *C. minus*, *C. ferruginosum* и *L. pinastri*, которые отмечались в пределах одного растения как в виде моноинфекции, так и в комплексе.

Следует отметить, что в тканях хвои исследуемых растений *P. nigra*, произрастающих вблизи *P. mugo*, пораженных *D. septosporum* и *L. acicola* [32], в разные годы исследования (2018–2019 гг.) доминировал фитопатоген *Neocatenulostroma germanicum*. Согласно некоторым литературным источникам, *N. germanicum* отмечается на соснах, в доминирующей или сопутствующей микрофлоре которых присутствует *Dothistroma* spp. [31, 33]. В данной работе возбудители дотистромоза (DNB) и коричневого пятнистого ожога (BSNB) генетически не были выявлены как в доминирующей, так и в сопутствующей микрофлоре исследуемых экземпляров сосны черной.

Сравнительный генетический анализ нуклеотидных последовательностей *D. septosporum* с депозитами из NCBI GenBank показал, что идентифицированные в данном исследовании изоляты (МК622273, MW037196) характеризовались 100 %-ной идентичностью по первичной структуре рДНК-маркера (18S рРНК – BTC1 – 5,8S рРНК – BTC2 – 28S рРНК) с белорусскими изолятами [15] и с большинством изолятов из Европы, Северной и Южной Америки (рис. 3). Исключения были представлены генотипами KU948411, MN864658, KP317915 и др., содержащими единичные SNP в спейсерах BTC1 и BTC2 или ошибочные данные, обусловленные спецификой технологии секвенирования по Сенгеру (неточности при считывании последовательности в начале и в конце нуклеотидной цепи).

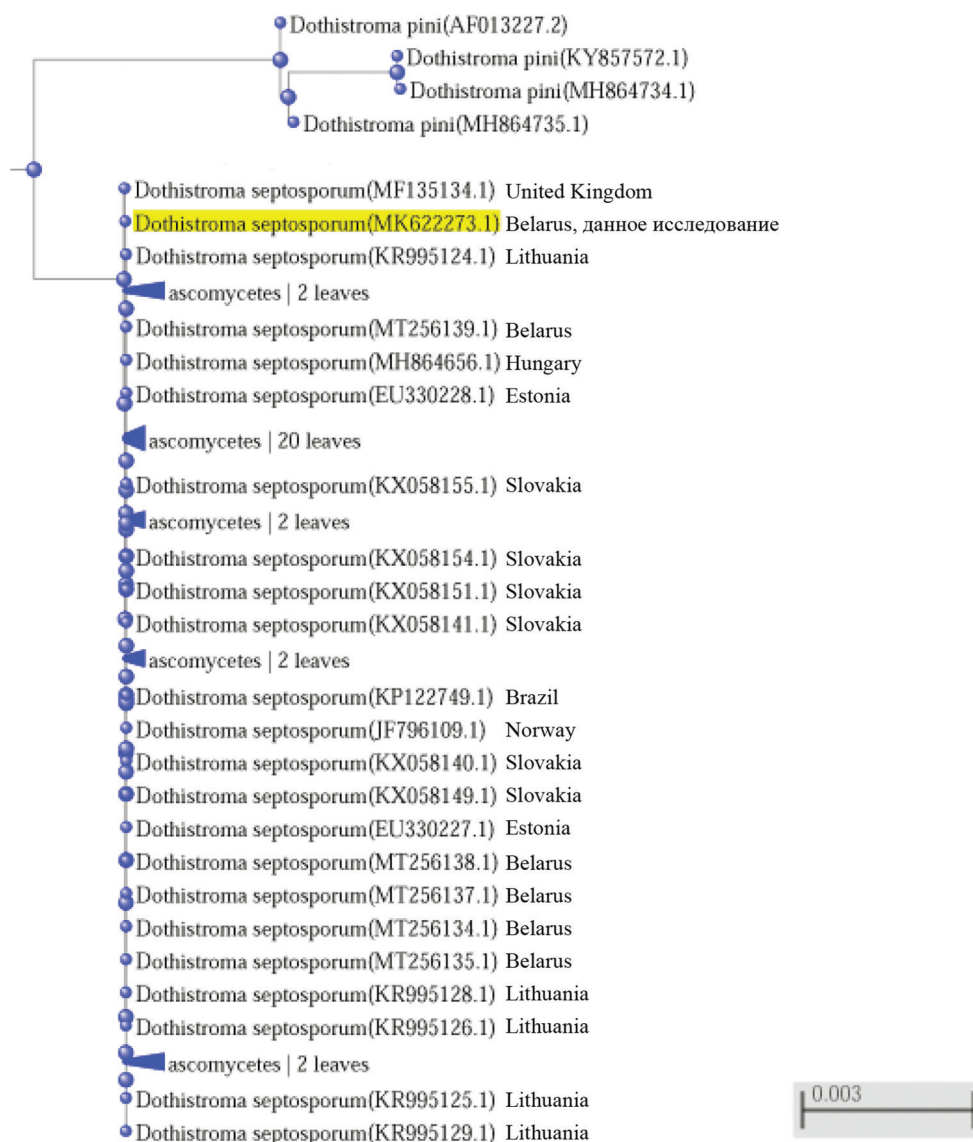


Рис. 3. Фрагмент дендрограммы, иллюстрирующий филогенетические связи белорусских изолятов *D. septosporum* с депозитами NCBI GenBank. *D. pini*, использован в качестве аутгруппы (NCBI Blast Tree View, метод присоединения соседей)

Fig. 3. Fragment of a dendrogram illustrating the phylogenetic relationships of the Belarusian isolates of *D. septosporum* with the NCBI GenBank deposits. *D. pini* used as an outgroup (NCBI Blast Tree View, Neighbor Joining)

Таким образом, учитывая генетические особенности рДНК-маркера *D. septosporum*, описанные многими авторами (NCBI) [29] и рассмотренные нами в данном исследовании, большинство популяций патогена характеризуются одним основным вариантом гаплотипа, которому сопутствуют уникальные генотипы с редкими SNP. Однако следует учесть тот факт, что рДНК является информативным инструментом для идентификации организмов на уровне вида, при этом для внутривидовой филогении более оптимальным вариантом является использование менее консервативных локусов, например таких, как гены мтДНК. Вместе с тем приведенные молекулярно-генетические данные свидетельствуют об относительной биологической целостности *D. septosporum* как вида и отсутствии выраженных процессов дивергенции.

На основании актуализированной симптоматики красной пятнистости хвои сосны в период с 2019 по 2020 г. проводился детальный анализ встречаемости инвазивного вида *D. septosporum* в стране. Исключение составили лесные питомники и старовозрастные насаждения сосны обыкновенной, сбор образцов хвои на которых представляет определенные сложности.

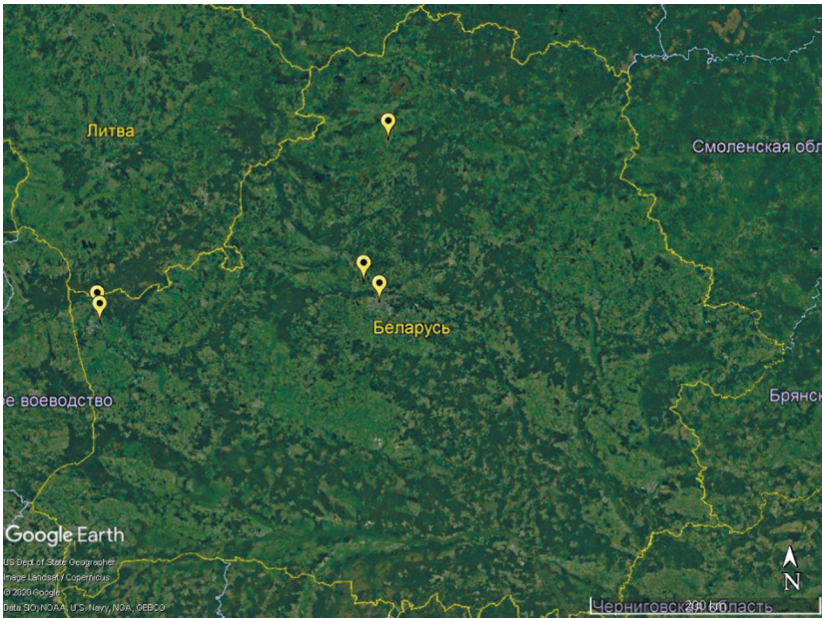


Рис. 4. Карта распространения вида *D. septosporum* на территории Беларуси

Fig. 4. Spatial distribution of *D. septosporum* in Belarus

По результатам обследования красная пятнистость хвои сосны выявлена нами на небольшом количестве растений только для видов *Pinus mugo*, *P. nigra* и *P. ponderosa*, выращиваемых в питомниках декоративных растений, ботанических и дендрологических садах (рис. 4).

Частота встречаемости инвазивного патогена составила 4,8–7,2 % (табл. 3). В то же время относительное количество пунктов наблюдений, в которых выявляли данный вид, было большим и насчитывало до 60 % от всего числа изученных объектов. Наибольшее количество случаев выявления патогена *D. septosporum* отмечалось среди саженцев интродуцированных видов сосен, поставляемых в республику в виде готового посадочного материала, что указывает на наличие латентной стадии в ходе инфицирования растений дотистромозом и на отсутствие выраженной симптоматики на этом этапе развития заболевания. Полученные данные указывают на необходимость использования в случае дотистромоза дополнительных фитопатологических методов исследований, позволяющих диагностировать инфекцию в латентной форме. Выявление локальных очагов инфекций в ботанических и дендрологических садах, по всей видимости, также обусловлено использованием ввезенного в страну зараженного бессимптомного посадочного материала при создании различных ботанических объектов.

Т а б л и ц а 3. Частота встречаемости инвазивного вида *Dothistroma septosporum* на растениях рода *Pinus* в разных видах насаждений республики (2019–2020 гг.)

Table 3. Frequency of *Dothistroma septosporum* occurrence in different habitats (2019–2020)

Вид насаждения	К-во обследованных пунктов наблюдения	Доля пунктов наблюдения, где выявлен вид <i>D. septosporum</i> , %	К-во обследованных деревьев, шт.	Частота встречаемости гриба, %
Питомники декоративных растений и садовые центры	5	60,0	83	7,2
Мини-дендрарии при лесхозах	6	0	25	0
Ботанические и дендрологические сады и парки	5	60,0	105	4,8
Парки, скверы, улицы городов	41	0	172	0
Территории возле административных зданий	14	0	270	0

Следует также отметить, что поражение грибом *D. septosporum* различных видов сосен не выявлено в городских насаждениях и мини-дендрариях при лесхозах. На наш взгляд, отсутствие локальных очагов инфекций в мини-дендрариях лесхозов может быть связано как с регулярно проводимыми санитарно-профилактическими и защитными мероприятиями, так и с использованием собственного, а не ввозимого извне посадочного материала. Кроме того, большую роль играет и отдаленное расположение всех обследованных пунктов наблюдений на урбанизированных территориях от садовых центров, ботанических садов и иных центров интродукции и импорта растений, что снижает возможность переноса возбудителей инфекции абиотическими и биотическими векторами. В то же время для установления причин отсутствия симптоматических растений в городских насаждениях необходимо проведение дальнейших исследований.

Заключение. Фитопатологическое обследование деревьев 16 видов сосны в разных видах городских насаждений, питомниках декоративных растений и садовых центрах, ботанических и дендрологических садах, лесных питомниках и мини-дендрариях, проведенное в 2016–2020 гг., позволило выявить и идентифицировать инвазивный патогенный гриб *Dothistroma septosporum* (Dorogin) M. Morelet – возбудитель дотистромоза (красной пятнистости хвой), инфекционного заболевания хвойных растений. Принадлежность выявленного микромицета к виду *D. septosporum* верифицирована с использованием метода ДНК-баркодирования. Болезнь выявлена у интродуцированных видов сосен: сосны горной, сосны черной и сосны желтой из ботанических и дендрологических коллекций, а также в питомниках декоративных растений. Заболеваемость растений отрицательно сказывается не только на фитосанитарном состоянии насаждений, но и на уровне рентабельности лесопромышленной деятельности вследствие снижения продуктивности древостоев.

В отличие от возбудителя коричневого пятнистого ожога хвой (гриб *Lecanosticta acicola* (Thüm.) Syd.), который поражает и старую, и молодую хвою сосен, не достигшую однолетнего возраста [32], симптомы красной пятнистости (гриб *D. septosporum*) выявлены нами только на двух- и трехлетней хвое. Также отмечено совместное поражение сосны горной грибами *D. septosporum* и *Cyclaneusma minus*.

В ходе данной работы болезнь отмечена у небольшого количества обследованных растений (частота встречаемости 4,8–7,2 %) в декоративных питомниках, ботанических и дендрологических садах. В то же время относительное количество объектов, в которых выявляли локальные очаги заболевания, было значительным (60 %). Выявление красной пятнистости хвой на растениях сосны, в основном ввозимых из-за рубежа, указывает на проникновение дотистромоза в страну вместе с бессимптомным инфицированным посадочным материалом.

Анализ литературных данных показывает, что данное заболевание является потенциально опасным для лесной отрасли республики, что обусловлено возможностью поражения дотистромозом аборигенного вида – сосны обыкновенной и последующим формированием и распространением очагов болезни. Среди основных мероприятий, направленных на снижение заболеваемости дотистромозом, особое внимание следует уделить совершенствованию методов диагностики, позволяющих идентифицировать патоген в бессимптомных растениях, организации регулярного мониторинга распространения гриба *D. septosporum* в разных видах зеленых насаждений республики, а также разработке методов по ограничению его вредоносности.

Список использованных источников

1. EPPO Global Database [Electronic resource]. – Mode of access: <https://gd.eppo.int>. – Date of access: 03.03.2020.
2. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory Fungus-Host Distributions Database. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service [Electronic resource]. – Mode of access: <https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/fungushost/fungushost.cfm>. – Date of access: 11.03.2020.
3. Global geographic distribution and host range of *Dothistroma* species: a comprehensive review / R. Drenkhan [et al.] // Forest Pathol. – 2016. – Vol. 46, N 5. – P. 408–442. – <http://doi.org/10.1111/efp.12290>
4. Multigene phylogenies reveal that red band needle blight is caused by two distinct species of *Dothistroma*, *D. septosporum* and *D. pini* / I. Barnes [et al.] // Studies Mycol. – 2004. – Vol. 50. – P. 551–565.
5. Булгаков, Т. С. Фитопатогенные грибы рода *Dothistroma* в России и прилегающих странах: история изучения и современные сведения / Т. С. Булгаков, Д. Л. Мусолин // Современная микология в России : материалы III Между-

нар. миколог. форума, Москва, 14–15 апр. 2015 г. / редкол. : Ю. Т. Дьяков (гл. ред.) [и др.]. – М. : Нац. акад. микол., 2015. – Т. 5. – С. 23–25.

6. Is the emergence of *Dothistroma* needle blight of Pine in France caused by the cryptic species *Dothistroma pini*? / B. Fabre [et al.] // *Phytopathology*. – 2012. – Vol. 102, N 1. – P. 47–54. – <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-11-0036>

7. Усиченко, А. С. *Dothistroma septosporum* (телеоморфа *Mycosphaerella pini*) – карантинный фитопатогенный гриб, выявленный в Украине / А. С. Усиченко, А. Ю. Акулов // Грибы в природных и антропогенных экосистемах : тр. Междунар. конф., посвящ. 100-летию начала работы проф. А. С. Бондарцева в Бот. ин-те им. В. Л. Комарова РАН. Санкт-Петербург, 24–28 апр. 2005. – СПб., 2005. – Т. 2. – С. 248–253.

8. Усиченко, А. С. *Dothistroma septosporum* – возбудитель усыхания хвой сосны в Украине / А. С. Усиченко, В. И. Кучерявенко // Лісівництво і агролісомеліорація. – 2006. – Вип. 110. – С. 226–229.

9. Соколова, Э. С. Грибные болезни древесных интродуцентов в насаждениях Москвы и Подмоскovie / Э. С. Соколова, Г. Б. Колганихина // Лесн. вестн. – 2009. – № 5 (68). – С. 145–153.

10. Жуков, А. М. Опасные малоизученные болезни хвойных пород в лесах России / А. М. Жуков, Ю. И. Гниненко, П. Д. Жуков. – Изд. 2-е, испр. и доп. – Пушкино : ВНИИЛМ, 2013. – 128 с.

11. *Dothistroma septosporum*, *D. pini* и *Hymenoscyphus fraxineus* (Ascomycota) – патогены древесных растений, вызывающие серьезную озабоченность в Европе / Д. Л. Мусолин [и др.] // Вредители и болезни древесных растений России. VIII чтения памяти О. А. Катаева : материалы Междунар. конф., Санкт-Петербург, 18–20 нояб. 2014 г. / под ред. Д. Л. Мусолина, А. В. Селиховкина. – СПб., 2014. – С. 54–55.

12. Kowalski, T. First record of *Dothistroma septospora* (Dorog.) Morelet in Poland: a contribution to the symptomatology and epidemiology / T. Kowalski, R. Jankowiak // *Phytopathologia Polonica*. – 1998. – Vol. 16. – P. 15–29.

13. Соколова, Э. С. Красная пятнистость, или дотистромоз хвой сосны / Э. С. Соколова // Питомник и частный сад. – 2018. – № 5. – С. 44–46.

14. Markovskaja, S. New data on invasive pathogenic fungus *Dothistroma septosporum* in Lithuania / S. Markovskaja, A. Treigienė // *Botanica Lithuanica*. – 2009. – Vol. 15 (1). – P. 41–45.

15. Occurrence of *Dothistroma* needle blight in Lithuania and Belarus: The risk posed to native Scots Pine forests / S. Markovskaja [et al.] // *Forest Pathol.* – 2020. – Art. e12626. <https://doi.org/10.1111/efp.12626>

16. Neotypification of *Dothistroma septosporum* and epitypification of *D. pini*, causal agents of *Dothistroma* needle blight of pine / I. Barnes [et al.] // *Forest Pathol.* – 2016. – Vol. 46, N 5. – P. 388–407. <https://doi.org/10.1111/efp.12304>

17. Булгаков, Т. С. Дотистромоз – новое опасное заболевание сосны крымской на юге России / Т. С. Булгаков // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2007. – № 17. – С. 109–113.

18. Инвазивные виды фитопатогенных организмов в Беларуси и сопредельных странах / Д. Б. Беломесяцева [и др.] // Ботаника (исследования) : сб. науч. тр. – Минск, 2013. – Вып. 42. – С. 87–98.

19. Интерактивный мультимедийный определитель наиболее распространенных болезней в лесном фонде, питомниках и дендропарках [Электронный ресурс]. – Минск, 2014. – Режим доступа: <http://cd.intelico.info/>. – Дата доступа: 15.09.2019.

20. Инвазивные виды грибов в консорции сосны обыкновенной / Д. Б. Беломесяцева [и др.] // Маніторинг і ацэнка стану расліннага свету : матэрыялы V Міжнар. навук. канф., Мінск–Белавежская пушча, 8–12 кастрычніка 2018 г. – Мінск, 2018. – С. 128–130.

21. Инвазивный компонент в составе микобиоты хвойных пород / Д. Б. Беломесяцева [и др.] // Тр. БГТУ. Сер. 1, Лесное хозяйство, природопользование и переработка возобновляемых ресурсов. – Минск, 2018. – № 1 (204). – С. 37–44.

22. Василевич, В. В. Исследование инвазии микопатогена хвойных *Dothistroma septosporum* на севере Беларуси / В. В. Василевич, Г. Г. Пиранов // Молодость. Интеллект. Инициатива : материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и магистрантов, Витебск, 22 апреля 2020 г. / Витеб. гос. ун-т ; редкол. : И. М. Прищепа [и др.]. – Витебск, 2020. – С. 47–50.

23. Методы экспериментальной микологии : справочник / И. А. Дудка [и др.] ; отв. ред. В. И. Билай. – Киев : Наук. думка, 1982. – 550 с.

24. Интегрированная защита растений : учебник для студентов учреждений, обеспечивающих получение высшего образования по агрономическим специальностям / Ю. А. Миренков [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2008. – 360 с.

25. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Воропаев. – Минск : Юнипол, 2007. – 176 с.

26. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi / C. L. Schoch [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 2012. – Vol. 109, N 16. – P. 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

27. Gardes, M. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts / M. Gardes, T. D. Bruns // *Mol. Ecol.* – 1993. – Vol. 2, N 2. – P. 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>

28. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T. White [et al.] // *PCR protocols: a guide to methods and applications* / ed. : M. A. Innis [et al.]. – San Diego, 1989. – P. 315–322.

29. National Center for Biotechnological Information, NCBI [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. – Date of access: 19.12.2019.

30. Жуков, А. М. Малоизвестные грибы – возбудители заболеваний хвойных пород в России / А. М. Жуков, Ю. И. Гниненко // Информ. бюл. ВПРС МОББ. – 2007. – № 37. – С. 134–141.

31. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens / S. Markovskaja [et al.] // *Forest Pathol.* – 2016. – Vol. 46, N 5. – P. 522–533. <https://doi.org/10.1111/efp.12308>

32. Новый инвазивный вид *Mycosphaerella dearnessii* в составе микобиоты хвои сосны на территории Беларуси / Л. А. Головченко [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 98–105.

33. Lazarević, J. Fungal diversity in the phyllosphere of *Pinus heldreichii* H. Christ – an endemic and high-altitude pine of the Mediterranean region / J. Lazarević, A. Menkis // *Diversity.* – 2020. – Vol. 12, N 5. – P. 172. <https://doi.org/10.3390/d12050172>

References

1. EPPO Global Database. Available at: <https://gd.eppo.int> (accessed 03.03.2020).
2. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory Fungus-Host Distributions Database. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Available at: <https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/fungushost/fungushost.cfm> (accessed 03.03.2020).
3. Drenkhan R., Tomešová-Haataja V., Fraser S., Bradshaw R. E., Vahalik P. [et al.]. Global geographic distribution and host range of *Dothistroma* species: a comprehensive review. *Forest Pathology*, 2016, vol. 46, no. 5, pp. 408–442. <http://doi.org/10.1111/efp.12290>
4. Barnes I., Crous P. W., Wingfield B. D., Wingfield M. J. Multigene phylogenies reveal that red band needle blight is caused by two distinct species of *Dothistroma*, *D. septosporum* and *D. pini*. *Studies in Mycology*, 2004, vol. 50, pp. 551–565.
5. Bulgakov T. S., Musolin D. L. Pathogenic species of *Dothistroma* in Russia and in the adjacent countries: history of investigation and modern state-of-the-art knowledge. *Sovremennaya mikologiya v Rossii: materialy III Mezhdunarodnogo mikologicheskogo foruma (Moskva, 14–15 aprelya 2015 goda)* [Modern mycology in Russia: materials of the III International Mycological Forum (Moscow, April 14–15, 2015)]. Moscow, 2015, vol. 5, pp. 23–25 (in Russian).
6. Fabre B., Ioos R., Piou D., Marçais B. Is the emergence of *Dothistroma* needle blight of *Pine* in France caused by the cryptic species *Dothistroma pini*? *Phytopathology*, 2012, vol. 102, no. 1, pp. 47–54. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-11-0036>
7. Usichenko A. S., Akulov A. Yu. *Dothistroma septosporum* (teleomorph *Mycosphaerella pini*) – quarantine phytopathogenic fungus detected in Ukraine. *Griby v prirodnykh i antropogennykh ekosistemakh: trudy Mezhdunarodnoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu nachala raboty professora A. S. Bondartseva v Botanicheskom institute imeni V. L. Komarova Rossiiskoi akademii nauk (Sankt-Peterburg, 24–28 aprelya 2005 goda)*. Tom 2 [Fungi in natural and anthropogenic ecosystems: proceedings of the International conference dedicated to the 100th anniversary of the beginning of the work of Professor A. S. Bondartsev in the V. L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (Sankt-Petersburg, April 24–28, 2005)]. Vol. 2]. Sankt-Peterburg, 2005, pp. 248–253 (in Russian).
8. Usichenko A. S., Kucheryavenko V. I. *Dothistroma septosporum* – the causal agent of red band needle blight in Ukraine. *Licivnitstvo i agrolisomelioratsiya = Forestry and forest melioration*, 2006, no. 110, pp. 226–229 (in Russian).
9. Sokolova E. S., Kolganikhina G. B. Fungal diseases of introduced woody plants in urban plantations of Moscow and the Moscow region. *Lesnoi vestnik = Forestry Bulletin*, 2009, no. 5 (68), pp. 145–153 (in Russian).
10. Zhukov A. M., Gninenko Ju. I., Zhukov P. D. *Hazardous understudied coniferous diseases in Russian forests*. 2nd ed. Pushkino, All-Russian Research Institute of Silviculture and Mechanization of Forestry, 2013. 128 p. (in Russian).
11. Musolin D. L., Bulgakov T. S., Selihovkin A. V., Adamson K., Drenkhan R., Vasajtis R. *Dothistroma septosporum*, *D. pini* i *Hymenoscyphus fraxineus* (Ascomycota) – woody plant pathogens of great concern in Europe. *Vrediteli i bolezni drevesnykh rastenii Rossii. VIII chteniya pamyati O. A. Kataeva: materialy Mezhdunarodnoi konferentsii (Sankt-Peterburg, 18–20 noyabrya 2014 goda)* [Pests and diseases of woody plants in Russia. VIII readings in memory of O. Kataev: materials of the International conference (St. Petersburg, November 18–20, 2014)]. Saint-Petersburg, 2014, pp. 54–55 (in Russian).
12. Kowalski T., Jankowiak R. First record of *Dothistroma septospora* (Dorog.) Morelet in Poland: a contribution to the symptomology and epidemiology. *Phytopathologia Polonica*, 1998, vol. 16, pp. 15–29.
13. Sokolova E. S. *Dothistroma* needle blight of *Pine*. *Pitomnik i chastnyi sad* [Nursery and garden, 2018], no. 5, pp. 44–46 (in Russian).
14. Markovskaja S., Treigienė A. New data on invasive pathogenic fungus *Dothistroma septosporum* in Lithuania. *Botanica Lithuanica*, 2009, vol. 15, no. 1, pp. 41–45.
15. Markovskaja S., Raitelaityte K., Kačergius A., Kolmakov P., Vasilevich V. Occurrence of *Dothistroma* needle blight in Lithuania and Belarus: The risk posed to native Scots Pine forests. *Forest Pathology*, 2020, art. e12626. <https://doi.org/10.1111/efp.12626>
16. Barnes I., van der Nest A., Mullett M. S., Crous P. W., Drenkhan R., Musolin D. L., Wingfield M. J. Neotypification of *Dothistroma septosporum* and epitypification of *D. pini*, causal agents of *Dothistroma* needle blight of pine. *Forest Pathology*, 2016, vol. 46, no. 5, pp. 388–407. <https://doi.org/10.1111/efp.12304>
17. Bulgakov T. S. *Dothistroma* needle blight – a new dangerous disease of *Crimean pine* (*Pinus pallasiana* D. Don) in the south of Russia. *Aktual'nye problemy lesnogo kompleksa* [Actual problems of forestry complex], 2007, no. 17, pp. 109–113 (in Russian).
18. Belomesyatseva D. B., Gapienko O. S., Zvyagintsev V. B., Zhdanovich S. A. The invasive species of phytopathogenic organisms in Belarus and in the adjacent countries. *Botanika (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov* [Botany (research): collection of scientific papers]. Minsk, 2013, vol. 42, pp. 87–98 (in Russian).
19. Interactive multimedia key of the most common diseases in forests, nurseries and dendroparks. Available at: <http://cd.intelico.info/> (accessed 20 July 2019) (in Russian).

20. Belomesyatseva D. B., Zvyagintsev V. B., Shabashova T. G., Volchenkova G. A. The invasive species of phytopathogenic fungi in Scotch pine consortium. *Manitoryng i atsenka stanu raslinnaga svetu: materyaly V Mizhnarodnai navukovai kanferentsyi (Minsk–Belavezhskaya pushcha, 8–12 kastychnika 2018 goda)* [Monitoring and assessment of the state of the plant world: materials of the V international scientific conference (Minsk–Belovezhskaya Pushcha, October 8–12, 2018)]. Minsk, 2018, pp. 128–130 (in Russian).
21. Belomesyatseva D. B., Zvyagintsev V. B., Shabashova T. G., Volchenkova G. A. Invasive species in the mycobiota of coniferous trees. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya 1, Lesnoe khozyaistvo, prirodopol'zovanie i pererabotka vozobnovlyayemykh resursov* [Proceedings of the Belarusian State Technological University. Series 1, Forestry, Environmental Management and Renewable Resources Processing], 2018, no. 1 (204), pp. 37–44 (in Russian).
22. Vasilevich V. V., Piranov G. G. Investigation of the *Dothistroma* needle blight in the North Belarus. *Molodost'. Intellect. Initsiativa: materialy VIII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov i magistrantov (Vitebsk, 22 aprelya 2020 goda)* [Youth. Intelligence. Initiative: materials of the VIII International scientific and practical conference of students and undergraduates (Vitebsk, April 22, 2020)]. Vitebsk, 2020, pp. 47–50 (in Russian).
23. Bilai V. I. (ed.). *Guide of the experimental mycology methods*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1982. 550 p. (in Russian).
24. Mirenkov Yu. A., Saskevich P. A., Tsyganov A. R., Kazharskii V. R. *Integrated pest and disease management: textbook for students*. Minsk, IVC Minfina Publ., 2008. 360 p. (in Russian).
25. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *The methods of molecular genetic technique*. Minsk, Yunipol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
26. Schoch C. L., Seifert K. A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J. L., Levesque C. A., Chen W. [et al.]. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, vol. 109, no. 16, pp. 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
27. Gardes M., Bruns T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application of the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 1993, vol. 2, no. 2, pp. 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1993.tb00005.x>
28. White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego, 1989, pp. 315–322.
29. *National Center for Biotechnological Information, NCBI*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed 19.12.2019).
30. Zhukov A. M., Gninenko Yu. I. Understudied fungi – causative agents of coniferous diseases in Russian forests. *Informatsionnyi byulleten' VPRS MOBB = Information bulletin EPRS IOBC*, 2007, no. 37, pp. 134–141.
31. Markovskaja S., Kačergius A., Davydenko K., Fraser S. First record of *Neocatenulostroma germanicum* on pines in Lithuania and Ukraine and its co-occurrence with *Dothistroma* spp. and other pathogens. *Forest Pathology*, 2016, vol. 46, no. 5, pp. 522–533. <https://doi.org/10.1111/efp.12308>
32. Golovchenko L. A., Dishuk N. G., Panteleev S. V., Baranov O. Yu. New invasive specie of *Mycosphaerella dearnessii* in the composition of mycobiota of pine needles in the territory of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 98–105 (in Russian).
33. Lazarević J., Menkis A. Fungal diversity in the phyllosphere of *Pinus heldreichii* H. Christ – an endemic and high-altitude pine of the Mediterranean region. *Diversity*, 2020, Vol. 12, no. 5, p. 172. <https://doi.org/10.3390/d12050172>

Информация об авторах

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

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

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

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

Information about the authors

Liudmila A. Golovchenko – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: L.Golovchenko@cbg.org.by

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

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

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 632.93, 635.21, 57.047

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-159-168>

Поступила в редакцию 02.02.2021

Received 02.02.2021

А. Н. Гриц¹, Е. Н. Карасева¹, Т. Б. Макарова¹, Е. И. Рыбинская¹, А. Л. Ольшаникова¹,
Т. Г. Янчевская¹, Е. В. Вязов², Т. Г. Курьянчик², С. М. Савина², Н. В. Шалыго²

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

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА С ИНДУКТОРАМИ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАТОГЕНАМ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ X-ВИРУСОМ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Аннотация. Изучены содержание активных форм кислорода, активность ключевых ферментов антиоксидантной защиты – аскорбатпероксидазы и глутатионредуктазы, уровень экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа (*HSR*), содержание частиц X-вируса в рассаде картофеля сорта Уладар, выращенной на ионообменном субстрате в присутствии комплексного препарата, содержащего хитозан, препарат на основе бактерии *Bacillus subtilis* и салициловую кислоту, при заражении X-вирусом. Показано накопление активных форм кислорода, возрастание активности аскорбатпероксидазы, понижение уровня экспрессии гена *HSR* и более низкое содержание частиц X-вируса в растениях картофеля в таких условиях. Зарегистрировано также увеличение количества мини-клубней и сухого вещества в них при выращивании зараженных X-вирусом растений картофеля на ионообменном субстрате в присутствии комплексного препарата.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., картофель, гиперчувствительный ответ, X-вирус картофеля, защитная система, аскорбатпероксидаза, глутатионредуктаза, активные формы кислорода, хитозан, *Bacillus subtilis*

Для цитирования: Действие комплексного препарата с индукторами устойчивости к патогенам на инфицирование X-вирусом растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) / А. Н. Гриц [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 159–168. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-159-168>

Aleksandr N. Grits¹, Elena N. Karasiova¹, Tatsiana B. Makarova¹, Katsiarina I. Rybinskaya¹, Anna L. Olshanikova¹,
Tamara G. Yanchevskaya¹, Yauhen V. Viazau², Tatsiana G. Kuryanchyk², Svetlana M. Savina², Nikolai V. Shalygo²

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

²Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EFFECT OF A COMPLEX PREPARATION WITH INDUCERS OF RESISTANCE TO PATHOGENS ON THE INFECTION OF THE POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) PLANTS WITH VIRUS X

Abstract. The content of reactive oxygen species, the activity of key antioxidant enzymes – ascorbate peroxidase and glutathione reductase, the level of expression of the hypersensitive response marker gene (*HSR*) as well as potato virus X particles content in cv. Uladar seedlings grown on an ion-exchange substrate in the presence of a complex preparation containing chitosan, *Bacillus subtilis* bacteria-based preparation and salicylic acid, when infected potato virus X. Accumulation of the reactive oxygen species, increase in ascorbate peroxidase activity, a lower level of *HSR* gene expression and a lower content of virus X particles in potato plants under such conditions are shown. An increase in both the number of potato minitubers and dry matter content in them was also registered when plants were grown on an ion-exchange substrate in the presence of a complex preparation.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., potato, hypersensitive response, potato virus X, defense system, ascorbate peroxidase, glutathione reductase, reactive oxygen species, chitosan, *Bacillus subtilis*

For citation: Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Rybinskaya K. I., Olshanikova A. L., Yanchevskaya T. G., Viazau Ya. V., Kuryanchyk T. G., Savina S. M., Shalygo N. V. Effect of a complex preparation with inducers of resistance to pathogens on the infection of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plants with virus X. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 159–168 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-159-168>

Введение. Эффективные средства защиты на основе индукторов устойчивости и биогенных элиситоров, применяемые в настоящее время при выращивании картофеля, немногочисленны и направлены в основном на защиту от грибковых и бактериальных инфекций. Препараты для защиты растений картофеля от вирусного инфицирования до сих пор не созданы, что вызывает

необходимость совершенствования существующих и разработки новых способов биологической защиты картофеля на стадии первичного семеноводства. Одним из таких способов защиты является применение комплексных препаратов, в состав которых входят непатогенные штаммы микроорганизмов, их метаболиты-элиситоры и экологически безопасные индукторы, совместное действие которых приводит к формированию неспецифического иммунитета в культуре картофеля в условиях как *in vitro*, так и *ex vitro*. Для картофеля хорошо зарекомендовала себя разработанная нами ранее технология с использованием минеральных субстратов, позволяющая не только повысить урожайность, но и снизить пестицидную нагрузку на растения [1, 2].

К числу природных индукторов устойчивости относится группа соединений растительного происхождения, на которые растения реагируют как на сигналы о присутствии в них патогенов. Это фрагменты пектина, кутина, целлюлозы, хитина и других полимеров, высвобождаемых при действии гидролитических ферментов (целлюлаз, кутиназ, хитиназ) патогенов или самого растения [3, 4]. В частности, на основе неспецифических элиситоров микроорганизмов – гиалуроновой кислоты, хитина, хитозана – созданы эффективные препараты, нашедшие практическое применение в защите растений от патогенов [5].

Среди противовирусных препаратов наиболее перспективными для практического применения в семеноводстве картофеля могут быть соединения – индукторы вирусоустойчивости растений, которые действуют на возбудителей через усиление в растениях природных реакций болезнестойчивости, защищающих их на длительное время от возможного заражения вирусами и другими патогенами, в том числе при размножении рассады картофеля для последующего получения мини-клубней [6].

Целью настоящей работы являлось изучение влияния созданного нами комплексного препарата, содержащего в качестве компонентов хитозан (β -(1-4)-2-амино-2-дезоксид-Д-гликополисахарид) – полианионный биополимер, культуральную жидкость *Bacillus subtilis* 47 и биорегулятор салициловую кислоту, на содержание частиц Х-вируса картофеля и урожайность мини-клубней сорта Уладар при выращивании картофеля на искусственном ионообменном субстрате.

Особое внимание было уделено изучению влияния этого препарата на окислительный статус растений и на показатели защитной системы, такие как активность аскорбатпероксидазы (АПР), участвующей в детоксикации пероксида водорода, активность глутатионредуктазы (ГР) – фермента, пополняющего в клетках растений уровень восстановленного глутатиона, и уровень экспрессии гена *HSR*, кодирующего маркер гиперчувствительного ответа растения, в ходе которого происходит запрограммированная гибель клеток вокруг очага поражения, что затрудняет дальнейшее распространение патогена.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлась рассада картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Уладар, которую выращивали под лампами ДНаТ 400 на ионообменном субстрате Триона-М, в который вносили экологически безопасные добавки из салициловой кислоты, биопестицида Карфил (производства ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси») на основе штамма *Bacillus subtilis* 47 и системного элиситора хитозана. Субстрат Триона-М, разработанный в Институте экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, включал цеолит, перлит, катионит Purolite C-100, анионит Tulsion A2ХМП в соотношении 14:1:5:20. Дополнительно в опытных вариантах в субстрат вносили индукторы устойчивости: *Bacillus subtilis* 47 (Карфил) в концентрации 10 мл/л субстрата (с исходной концентрацией $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл препарата Карфил), салициловую кислоту (10^{-5} М); хитозан в концентрации 1 г/л (0,1 %) либо 5 г/л (0,5 %) [7]. Совокупность указанных добавок в субстрат условно обозначена нами как «комплексный препарат».

В опытах использовали биотехнический комплекс БТК-1 (рис. 1) с посадочной площадью 2 м², который заполняли многокомпонентным ионообменным субстратом. Высота субстратного слоя на модуле БТК-1 составляла 4 см. Объем субстрата на модуль – 60 л, объем субстрата – 0,5 л, или 250 г на растение, рН субстрата – 6,4.

При определении активности защитной системы использовали специальные квадратные емкости (21×21×10 см), в которых высота субстратного слоя также составляла 4 см, объем субстрата – 0,2 л, или 150 г на растение.



Рис. 1. Регенеранты растений картофеля сорта Уладар, выращиваемые на субстрате Триона-М с добавлением комплексного препарата: слева – двухнедельные регенеранты растений картофеля сорта Уладар; справа – растения в возрасте 40 сут на стадии начала бутонизации

Fig. 1. Regenerants of Uladar potato plants grown on a Triona-M substrate with the addition of the complex preparation: on the left – two-week old regenerants of Uladar potato plants; on the right – 40-day old plants at the beginning of the budding stage

Во всех опытах выравненные по размеру ($7 \pm 0,5$ см) и массе ($0,65 \pm 0,04$ г) черенки меристемных растений одновременно высаживали на установку БТК-1 (120 шт. на модуль) и в квадратные емкости в количестве 9 шт. Опыт проводили в трехкратной повторности.

Источник света – натриевые лампы высокого давления с зеркальными отражателями (ДНАЗ-400) для освещения модулей (посадочной площадью 2 м^2) и без отражателей (ДНАТ-400) для освещения модулей с квадратными емкостями ($21 \times 21 \times 10$ см), излучающие в желто-оранжевой области спектра ($\lambda = 560\text{--}610$ нм) с максимумом излучения $\lambda_{\text{max}} = 594\text{--}600$ нм и высоким КПД (28–30 %) по ФАР. Режим вегетации – фотопериод день/ночь (16/8 ч), влажность субстрата – 60–70 %. Полив растений на ионообменных субстратах осуществляли дистиллированной (на стадии рассады) или отстоявшейся водопроводной водой (на стадии клубнеобразования). Чтобы снизить испарение влаги черенки сверху прикрывали прозрачными крышками. Для исключения влияния интенсивности световых потоков емкости с растениями периодически меняли местами.

В качестве контроля выступали растения, выращиваемые в тех же условиях на субстрате Триона, но без добавления комплексного препарата.

Заражение X-вирусом картофеля (ХВК) проводили путем микроинъекции в верхушечную часть 30-дневных растений с одновременным натиранием растений картофеля клеточным соком ХВК-доноров при помощи мелкозернистой наждачной бумаги. Для иммуноферментного анализа (ИФА) отбирали пробы листьев 4-го листового яруса на 30-е сутки (непосредственно перед инфицированием) и на 20-е сутки (50 сут с начала посадки растений в субстрат) после заражения ХВК. Урожайность анализировали через 3 мес. после полного завершения вегетационного периода. Пробы листьев растений для изучения содержания АФК, активности антиоксидантных ферментов – АПР и ГР, а также экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа (*HSR*) отбирали на 20-е сутки (за 10 сут до заражения) и на стадии бутонизации на 50-е сутки (спустя 20 сут после заражения ХВК) [8–10].

Общее содержание АФК в экстрактах растений картофеля определяли, регистрируя с помощью зонда (2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата, способного окисляться в присутствии АФК до флуоресцирующего продукта дихлорфлуоресцеина) флуоресценцию дихлорфлуоресцеина ($\lambda_{\text{воз}} = 496$ нм, $\lambda_{\text{набл}} = 524$ нм) [11].

Активность АПР определяли, используя реакцию восстановления аскорбата пероксидом водорода. Кинетику потребления аскорбата регистрировали в течение 20 с при 290 нм на спектрофотометре Uvikon 931. Активность фермента рассчитывали по коэффициенту экстинкции $\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [12]. Общую активность ГР определяли по методу, описанному в работе [13]. Активность ГР рассчитывали, применяя коэффициент экстинкции $\epsilon = 6,22 \text{ мкМ}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [8]. Содержание общего белка определяли по методу Бредфорда [14].

Для определения уровня экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа *HSR* из листьев картофеля выделяли общую РНК с помощью реагента TRIzol GTM (AppliChem, Германия). Количество выделенной РНК определяли по поглощению при 260 нм на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США). Степень чистоты полученных образцов оценивали по соотношению A_{260}/A_{280} (данный показатель должен быть больше 1,7) [15]. Для получения кДНК на матрице РНК использовали реакцию обратной транскрипции с применением обратной транскриптазы вируса мышиной лейкемии Молони. Синтез кДНК проводили с помощью ProtoScript II Reverse Transcriptase (BioLabs, США) в амплификаторе MJ Mini (Bio-Rad, США). Полученную кДНК хранили в морозильной камере при -20°C [15]. При подборе олигонуклеотидных праймеров, специфичных к генам защитных белков, использовали последовательности мРНК выбранных генов, найденных в базе данных Nucleotide NCBI. Праймеры синтезировали в лаборатории ДНК-праймеров Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Дизайн праймеров для гена *HSR* осуществляли самостоятельно (нуклеотидная последовательность этих праймеров опубликована нами в работе [10]). Нуклеотидная последовательность для праймеров гена-нормализатора *EF* (кодирует фактор элонгации 1α), используемого при количественных расчетах уровня экспрессии изучаемых генов, была взята из работы [16]. Уровень экспрессии генов определяли методом ПЦР-анализа в реальном времени (ПЦР-РВ). Реакционная смесь (10 мкл) содержала: 1 мкл кДНК; 10 пмоль каждого праймера; 4 мкл 2,5 $\times$ реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVA Green («СИНТОЛ», Россия) и воду. ПЦР-РВ проводили с использованием термоциклера C1000 Touch Thermal Cycler с оптическим реакционным модулем CFX96 (Bio-Rad, США) в следующих условиях: предварительная денатурация – 95°C , 5 мин; плавление – 95°C , 15 с; отжиг – $55\text{--}60^\circ\text{C}$, 45 с. Количество циклов амплификации – 40–50. Полученные результаты обрабатывали с помощью программы Bio-Rad CFX Maestro. Уровень экспрессии генов определяли в единицах относительно экспрессии гена-нормализатора *EF*.

ИФА для определения содержания частиц ХВК проводили самостоятельно согласно протоколу фирмы – производителя наборов ИФА [17], а также в лаборатории иммунодиагностики РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству».

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программы Excel 2010 (Microsoft, США) и SigmaPlot 12.5 (SYSTAT Software).

Результаты и их обсуждение. В листьях контрольных растений картофеля, выращенных только на субстрате, не инфицированных или инфицированных ХВК (варианты «Триона» и «Триона ХВК»), а также в листьях опытных растений, выращенных на субстрате с добавлением комплексного препарата, не зараженных или зараженных ХВК (варианты «Триона + добавки», «Триона + добавки ХВК»), на стадии бутанизации определяли общее содержание АФК (рис. 2), активность АПР и ГР (рис. 3), а также уровень экспрессии гена *HSR* (рис. 4). Установлено достоверное повышение (на 25 %) количества АФК только в листьях картофеля в опытном варианте «Триона + добавки ХВК» по сравнению с контролем «Триона ХВК» (см. рис. 2).

Анализ активности АПР и ГР (рис. 3) показал, что в вариантах с применением комплексного препарата активность АПР была выше как в зараженных, так и в незараженных растениях. При этом отличия между опытными вариантами были незначительными. По активности ГР наблюдалась схожая закономерность.

С помощью метода ПЦР-РВ были получены данные об уровне экспрессии гена *HSR*, кодирующего белок-маркер гиперчувствительного ответа.

Выявлено повышение уровня экспрессии гена *HSR* (в 3 раза) в листьях контрольных растений, выращенных в субстрате без добавления комплексного препарата и зараженных ХВК по сравнению с таковым у неинфицированных в таких условиях растений, и незначительное

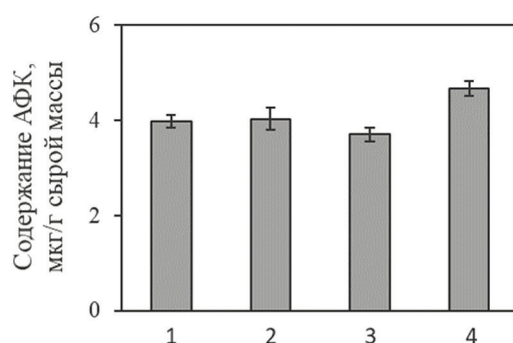


Рис. 2. Общий уровень АФК в листьях растений картофеля на стадии бутонизации. Здесь и на рис. 3, 4: 1 – растения, выращенные на субстрате Триона-М; 2 – растения, выращенные на субстрате Триона-М с добавлением 10 мл/л субстрата препарата на основе *Bacillus subtilis*, 10^{-5} М салициловой кислоты и 1 г/л хитозана; 3 – растения, зараженные X-вирусом картофеля; 4 – растения, выращенные на субстрате Триона-М с добавлением 10 мл/л субстрата препарата на основе *Bacillus subtilis*, 10^{-5} М салициловой кислоты и 1 г/л хитозана и зараженные X-вирусом картофеля; * – достоверные отличия от контроля ($p \leq 0,05$)

Fig. 2. Total reactive oxygen species content in leaves of potato plants at the stage of budding. Here and in Fig. 3, 4: 1 – plants grown on the Triona-M substrate; 2 – plants grown on a Triona-M substrate with the addition of 10 ml/l of a preparation based on *Bacillus subtilis*, 10^{-5} M of salicylic acid and 1 g/l of chitosan; 3 – plants infected with potato virus X; 4 – plants grown on a Triona-M substrate with the addition of 10 ml/l of a preparation based on *Bacillus subtilis*, 10^{-5} M of salicylic acid and 1 g/l of chitosan, infected with potato virus X; * – significant difference from control ($p \leq 0.05$)

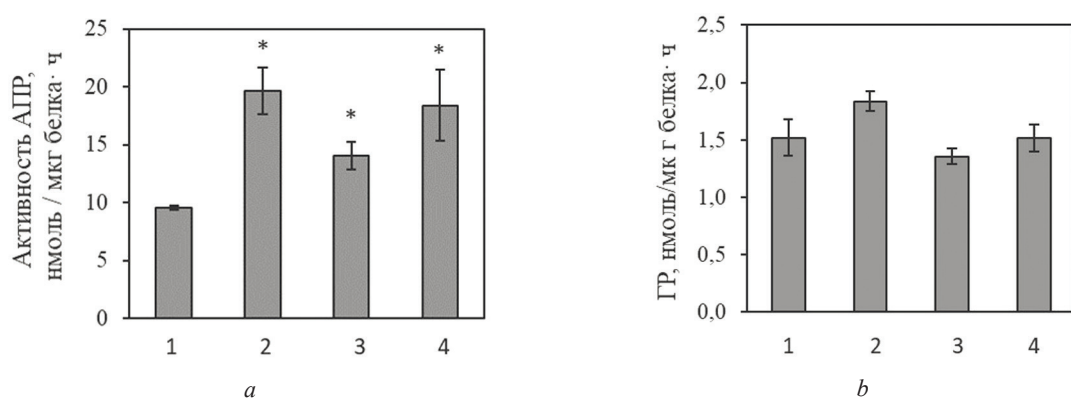


Рис. 3. Активность АПР (a) и ГР (b) в листьях растений картофеля на стадии бутонизации

Fig. 3. Activities of ascorbate peroxidase (a) and glutathione reductase (b) in leaves of potato plants at the stage of budding

повышение данного показателя (в 1,6 раза) в листьях зараженных растений, выращенных в субстрате с добавлением препарата (рис. 4). При этом экспрессия гена *HSR* в варианте «Триона ХВК» была в 1,7 раза выше, чем в варианте «Триона + добавки ХВК».

Таким образом, использование комплексного препарата приводит к усилению генерации АФК при заражении растений ХВК. При этом регистрируется увеличение активности АПР и ГР относительно контроля (чистый субстрат Триона-М) как при заражении вирусом, так и без него. По-видимому, увеличение содержания АФК под действием комплексного препарата способствует активации защитной системы и, как следствие, успешному формированию устойчивости к патогенным микроорганизмам. Так, при использовании препарата наблюдается лишь незначительное повышение уровня экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа при заражении ХВК, в то время как для растений, выращенных на чистом субстрате, экспрессия *HSR*, наоборот, в 3 раза выше исходной. Последнее, в совокупности с представленными ниже данными по урожайности и содержанию вирусного материала в листьях растений, свидетельствует об успешной активации защитных механизмов по подавлению вирусной инфекции, что обусловило отсутствие индукции гиперчувствительного ответа спустя 20 сут после заражения ХВК.

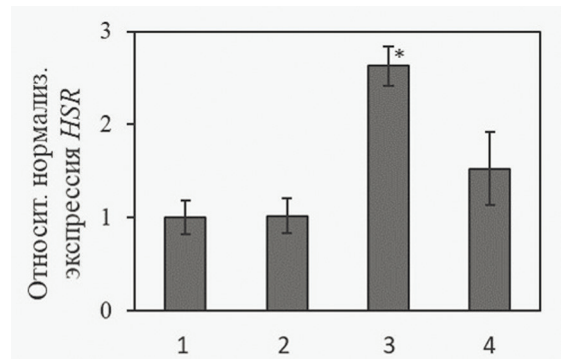


Рис. 4. Экспрессия гена *HSR* в листьях растений картофеля на стадии бутонизации
Fig. 4. Expression of *HSR* gene in leaves of potato plants at the stage of budding

Важнейшими параметрами при исследовании влияния комплексного препарата являются урожайность мини-клубней, а также общая структура урожая, определяемая такими показателями, как средняя масса и доля сухого вещества в изучаемом растительном материале картофеля сорта Уладар.

Следует отметить, что полный цикл вегетации длился около 3 мес., после чего производился подсчет урожайности полученных мини-клубней. Данные по урожайности (см. таблицу) демонстрируют эффективность действия комплексного препарата в составе ионообменного субстрата Триона-М. Наблюдается увеличение количества мини-клубней, их средней массы в присутствии индуцирующих устойчивость добавок и содержания сухого вещества (см. таблицу).

В настоящее время активно изучаются различные функциональные композиции элиситоров и индукторов устойчивости, совместное действие которых способно обеспечить комплексный эффект, включая индукцию механизмов защиты, стимуляцию роста и развития растения, ускорение формирования различных культурно-значимых признаков [18]. Показано, что низкомолекулярный хитозан в комплексе с салициловой кислотой проявляет как лечебное, так и защитное (иммунизирующее) действие против Y-вируса картофеля [19]. Была предложена новая концепция создания препаратов на основе хитозана [18] с использованием его и как полианионной полимерной матрицы для сорбции различных соединений, и как индуктора неспецифической устойчивости в сочетании с сигнальными молекулами болезнеустойчивости иного, чем у хитозана, механизма действия.

Структура урожая картофеля сорта Уладар
Yield structure of potato cv. Uladar

Вариант	Средняя масса клубня, г	Относительное содержание сухого вещества в клубнях, %
Контроль, зараженный ХВК	13,6 ± 3,1	18,7 ± 0,4
Контроль, не зараженный ХВК	16,0 ± 4,6	19,5 ± 0,6
Добавки + ХВК	22,9 ± 3,5	22,4 ± 0,2
Добавки без инфицирования ХВК	21,6 ± 4,5	23,5 ± 0,8

Повышение биологической эффективности препаратов в данном случае достигается за счет включения в их состав хитозана с широким диапазоном молекулярных масс, при этом возможны подбор соотношения олигомеров и полимеров хитозана с низкой и высокой молекулярной массой, наиболее эффективного для каждой системы патоген–хозяин, подбор соответствующей органической физиологически активной кислоты (салициловой, кремниевой, арахидоновой, глутаминовой, янтарной), введение в состав микробиологически активных добавок, улучшение препаративных форм и совершенствование методов использования. Координированная индукция целого комплекса защитных реакций происходит при сочетании хитозана с биологически активными веществами, гормонами роста и микробиологическими препаратами. Так, повышение

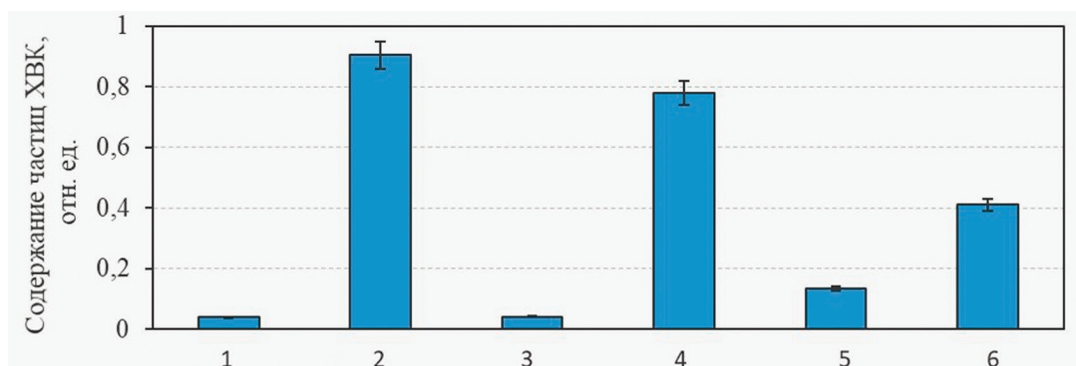


Рис. 5. Содержание частиц X-вирусов в 50-дневных регенерантах картофеля сорта Уладар на ионообменном субстрате Триона-М в присутствии индукторов устойчивости: салициловой кислоты (10^{-5} М), хитозана (1 и 5 г/л), препарата на основе *Bacillus subtilis* 47 (10 мл/л субстрата) на фоне вирусного инфицирования ХВК: 1 – контроль, ионообменный субстрат Триона-М; 2 – растения, инфицированные ХВК на субстрате Триона-М; 3 – растения с добавлением комплексного препарата (СК 10^{-5} М, хитозан 1 г/л субстрата (0,1 %), *Bacillus subtilis* 47 (10 мл $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл); 4 – растения с добавлением комплексного препарата (0,1 % по хитозану), инфицированные ХВК; 5 – растения с добавлением комплексного препарата (СК 10^{-5} М, хитозан 5 г/л субстрата (0,5 %), *Bacillus subtilis* 47 (10 мл $2,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл); 6 – растения с добавлением комплексного препарата (0,5 % по хитозану), инфицированные ХВК)

Fig. 5. Potato virus X particles content in 30-day regenerants of cv. Uladar potato plants in the Triona ion-exchange substrate in the presence of resistance inducers: salicylic acid (10^{-5} M), chitosan (1 and 5 g/l), preparation based on *Bacillus subtilis* 47 (10 ml/l) during viral infection with potato virus X: 1 – control, ion-exchange substrate Triona-M; 2 – plants infected with potato virus X on the Triona-M substrate; 3 – plants grown with the addition of a complex preparation (salicylic acid 10^{-5} M, chitosan 1 g/l substrate (0.1 %), *Bacillus subtilis* 47 (10 ml $2.5 \cdot 10^9$ CFU/ml); 4 – plants with the addition of a complex preparation (with 0.1 % chitosan) infected with potato virus X; 5 – plants grown with the addition of a complex preparation (salicylic acid 10^{-5} M, chitosan 1 g/l substrate (0.1 %), *Bacillus subtilis* 47 (10 ml $2.5 \cdot 10^9$ CFU/ml); 6 – plants grown with the addition of a complex preparation (0.5 % chitosan) infected with potato virus X)

биологической эффективности хитозана против фитотфторы и Y-вируса на картофеле достигнуто в результате включения в состав арахидоновой и салициловой кислот [19]. Схожий подход был применен и нами при создании комплексной защитной добавки в ионообменный субстрат, состоящей из коммерческого препарата хитозана, содержащего смесь олигомеров и полимеров с низкой и высокой молекулярной массой, микробиологического препарата на основе *Bacillus subtilis* и салициловой кислоты.

В ходе дальнейшей работы методом ИФА показано изменение содержания частиц ХВК при включении в ионообменный субстрат Триона-М смеси элиситорных добавок (комплексный препарат: хитозан, салициловая кислота и микробиологический препарат на основе *Bacillus subtilis*), отличающихся между собой содержанием хитозана, т. е. в каждом опытном варианте помимо хитозана присутствовали также салициловая кислота и препарат на основе *Bacillus subtilis* в указанных выше концентрациях. Стоит отметить, что, согласно протоколу производителя наборов для ИФА, значения $ОП_{492} = 0,1$ или немного больше, как в пробе «Триона + 5 г хитозана», не свидетельствуют об инфицировании. Подобное увеличение ($ОП_{492} = 0,133$) обусловлено погрешностью фоновой реакции конъюгата. Показано, что эффективность антивирусного действия вносимых добавок коррелирует с количеством присутствующего в их составе хитозана (рис. 5). Комплексный препарат с содержанием 0,1 % хитозана в субстрате вызывает 15–20 % ингибирования ХВК в растениях картофеля, в то время как препарат с 0,5 % хитозана – порядка 60 % ингибирования вирусной инфекции. Применение более высоких концентраций хитозана в постановочных опытах не приводило к снижению содержания ХВК. Полученные данные согласуются с результатами других авторов [20].

Заключение. Показано, что в растениях картофеля, выращиваемых на ионообменном субстрате в присутствии комплексного препарата, содержащего хитозан, препарат на основе бактерий *Bacillus subtilis* и салициловой кислоты, при заражении ХВК происходит накопление АФК, увеличение активности антиоксидантных ферментов – АПР и ГР. При заражении вирусом

в контрольных растениях, выращиваемых только на субстрате, наблюдается трехкратное повышение уровня экспрессии генов гиперчувствительности *HSR*, в то время как в растениях, выращиваемых на субстрате с добавлением комплексного препарата, уровень экспрессии генов *HSR* при заражении ХВК возрастает только в 1,5 раза. В таких растениях регистрируется более низкое количество ХВК, повышенное количество мини-клубней и более высокое содержание сухого вещества в них. Полученные результаты указывают на эффективность использования этого комплексного препарата в качестве индуктора устойчивости растений картофеля к ХВК, а также в качестве стимулятора их роста и развития. Использование препарата позволит не только сохранить высокую урожайность растений в условиях инфицирования ХВК, но и повысить ее благодаря стимулирующему действию входящих в него компонентов.

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

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

Список использованных источников

1. Stimulation of cellular mechanisms of potato antiviral resistance by the action of a preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria / T. G. Yanchevskaya [et al.] // Appl. Biochem. Microbiol. – 2018. – Vol. 54, N 3. – P. 324–330. <https://doi.org/10.1134/s0003683818030158>
2. Поликсенова, В. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата) / В. Д. Поликсенова // Вестн. БГУ. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2009. – № 1. – С. 48–60.
3. Choudhary, D. K. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action / D. K. Choudhary, A. Prakash, B. N. Johri // Indian J. Microbiol. – 2007. – Vol. 47, N 4. – P. 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
4. Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants / F. J. Romera [et al.] // Front. Plant Sci. – 2019. – Vol. 10. – Art. 287. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00287>
5. Горбатов, В. С. Экологическая оценка пестицидов / В. С. Горбатов, Ю. М. Матвеев, Т. В. Кононова // Агро XXI. – 2008. – № 1–3. – С. 7–9.
6. Yanchevskaya, T. G. Physiological and biochemical optimization of mineral nutrition of plants / T. G. Yanchevskaya. – Saarbrücken : Lambert [in Russian], 2018.
7. Влияние фракций препарата Антивайрус на изменение содержания Х-, Y-вирусов в растениях картофеля белорусской селекции *in vitro* / Т. Г. Янчевская [и др.] // Ботаника (исследования) : сб. науч. тр. – Минск, 2016. – № 45. – С. 376–385.
8. Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на функционирование защитной системы рассады картофеля (*Solanum tuberosum* L.) при выращивании на искусственном ионообменном субстрате и заражении X-вирусом картофеля / Е. В. Вязов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 391–401.
9. Влияние элиситоров бактериального происхождения на функционирование защитной системы рассады картофеля (*Solanum tuberosum* L.), зараженной X-вирусом / Е. В. Вязов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 135–143.
10. Влияние хитозана на окислительный статус, ферменты окислительного метаболизма и инфицирование X-вирусом растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) на искусственных ионообменных субстратах *in vivo* / Т. Г. Янчевская [и др.] // Физиология растений и генетика. – 2019. – Т. 51, № 2. – С. 147–160.
11. Kozel, N. V. Barley leaf antioxidant system under photooxidative stress induced by Rose Bengal / N. V. Kozel, N. V. Shalygo // Rus. J. Plant Physiol. – 2009. – Vol. 56. – P. 316–332. <https://doi.org/10.1134/S1021443709030030>
12. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone / M. Sanmartin [et al.] // Planta. – 2003. – Vol. 216. – P. 918–928. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0944-9>
13. Mittler, R. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium / R. Mittler, B. A. Zilinskas // Anal. Biochem. – 1993. – Vol. 212, N 2. – P. 540–546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>
14. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72, N 1–2. – P. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
15. Технология ДНК-типирования генов устойчивости ячменя к засухе : метод. указания / И. Н. Доманская [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2011. – 31 с.
16. Пасалари, Х. Экспрессия генов защитного ответа в листьях трансгенного картофеля после обработки глифосатом / Х. Пасалари, А. Н. Евтушенков // Вестн. БГУ. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2016. – № 1. – С. 31–35.
17. Инструкция по использованию иммуноферментного диагностического набора для определения вирусов картофеля / Рос. с.-х. акад. НПО по картофелеводству. – М. : Коренево, 2011. – 8 с.

18. Тютерев, С. Л. Экологически безопасные индукторы устойчивости растений к болезням и физиологическим стрессам / С. Л. Тютерев // Вестн. защиты растений. – 2015. – Т. 1, № 83. – С. 3–13.
19. Евстигнеева, Т. А. Действие фитоактивного хитозана и салициловой кислоты на устойчивость растений картофеля к вирусу / Т. А. Евстигнеева, Н. А. Павлова, С. Л. Тютерев // Вестн. защиты растений. – 2012. – № 2. – С. 27–33.
20. Тютерев, С. Л. Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням / С. Л. Тютерев. – СПб. : Всерос. НИИ защиты растений, 2014. – 212 с.

References

1. Yanchevskaya T. G., Grits A. N., Kolomiets E. I., Romanovskaya T. V., Yarullina L. G., Ibragimov R. I., Tsvetkov V. O. Stimulation of cellular mechanisms of potato antiviral resistance by the action of a preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2018, vol. 54, no. 3, pp. 324–330. <https://doi.org/10.1134/s0003683818030158>
2. Poliksenova V. D. Induced plant resistance to pathogens and abiotic stress factors (for example, tomato). *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2, Chemistry. Biology. Geography], 2009, no. 1, pp. 48–60 (in Russian).
3. Choudhary D. K., Prakash A., Johri B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 2007, vol. 47, no. 4, pp. 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
4. Romera F. J., García M. J., Lucena C., Martínez-Medina A., Aparicio M. A., Ramos J., Alcántara E., Angulo M., Pérez-Vicente R. Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, art. 287. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00287>
5. Gorbатов V. S., Matveev Yu. M., Kononova T. V. Environmental assessment of pesticides. *Agro XXI* [Agro XXI], 2008, no. 1–3, pp. 7–9 (in Russian).
6. Yanchevskaya T. G. *Physiological and biochemical optimization of mineral nutrition of plants*. Saarbrücken, Lambert [in Russian], 2018.
7. Yanchevskaya T. G., Grits A. N., Makarova T. B., Oleshuk E. N., Romanovskaya T. V. Influence of fractions of the Antiviral preparation on the change in the content of X-, Y-viruses in potato plants of Belarusian breeding *in vitro*. *Botanika (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov* [Botany (research): collection of scientific papers]. Minsk, 2016, no. 45, pp. 376–385 (in Russian).
8. Vyazov E. V., Kalyaga T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Yu., Shalygo N. V., Grits A. N. [et al.] Influence of exogenous jasmonic acid on the functioning of a defense system of potato seedlings (*Solanum tuberosum* L.) grown on artificial ion exchange substrate and infected with X-virus of potato. *Vesti Natsyyanal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 391–401 (in Russian).
9. Vyazov E. V., Kalyaga T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Yu., Grits A. N., Karaseva E. N., Makarova T. B., Ol'shanikova A. L. The effect of elicitors of bacterial origin on the functioning of the protective system of potato (*Solanum tuberosum* L.) seedlings infected with X-virus. *Vesti Natsyyanal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 135–143 (in Russian).
10. Yanchevskaya T. G., Shalygo N. V., Ol'shanikova A. L., Grits A. N., Makarova T. B., Oleshuk E. N., Karaseva E. N., Rybinskaya E. I., Filipchik E. A., Kalyaga T. G. Influence of chitosan on oxidative status, enzymes of oxidative metabolism and X-viral infection of potato plants (*Solanum tuberosum* L.) on artificial ion exchange substrates *in vivo*. *Fiziologiya rastenii i genetika* [Plant physiology and genetics], 2019, vol. 51, no. 2, pp. 147–160 (in Russian).
11. Kozel N. V., Shalygo N. V. Barley leaf antioxidant system under photooxidative stress induced by Rose Bengal. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2009, vol. 56, pp. 316–322. <https://doi.org/10.1134/S1021443709030030>
12. Sanmartín M., Drogoudi P. D., Lyons T., Pateraki I., Barnes J., Kanellis A. K. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone. *Planta*, 2003, vol. 216, pp. 918–928. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0944-9>
13. Mittler R., Zilinskas B. A. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium. *Analytical Biochemistry*, 1993, vol. 212, no. 2, pp. 540–546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>
14. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1–2, pp. 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
15. Domanskaya I. N., Radyuk M. S., Budakova E. A., Samovich T. V., Spivak E. A., Shalygo N. V. *Technology of DNA typing of genes of barley resistance to drought*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2011. 31 p. (in Russian).
16. Palarari Kh., Evtushenkov A. N. Pr-genes expression in the lives of transgenic potato plants after glyphosate treatment. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2, Chemistry. Biology. Geography], 2016, no. 1, pp. 31–35 (in Russian).
17. *Instructions for using the enzyme immunoassay diagnostic kit for the determination of potato viruses*. Moscow, Korenevo, 2011. 8 p. (in Russian).
18. Tyuterev S. L. Environmentally friendly inducers of plant resistance to diseases and physiological stress. *Vestnik zashchity rastenii* [Plant protection bulletin], 2015, vol. 1 (83), pp. 3–13 (in Russian).
19. Evstigneeva T. A., Pavlova N. A., Tyuterev S. L. The effect of phytoactive chitosan and salicylic acid on the resistance of potato plants to the virus U. *Vestnik zashchity rastenii* [Plant protection bulletin], 2012, no. 2, pp. 27–33 (in Russian).
20. Tyuterev S. L. *Natural and synthetic inducers of plant resistance to diseases*. St. Petersburg, All-Russian Research Institute of Plant Protection, 2014. 212 p. (in Russian).

Информация об авторах

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

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

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

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

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

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

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

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

Савина Светлана Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: svetlanapavluchkova@yandex.ru

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

Information about the authors

Aleksandr N. Grits – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alexander196431@yahoo.com

Elena N. Karasiova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ledymc_net@mail.ru

Tatsiana B. Makarova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t62makarova@mail.ru

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

Anna L. Olshanikova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: annaolshanikova@mail.ru

Tamara G. Yanchevskaya – Ph. D. (Biol.). V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t_yanch@mail.ru

Yauhen V. Viazau – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yauhen.viazau@gmail.com

Tatsiana G. Kuryanchyk – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t_kalyaga@mail.ru

Svetlana M. Savina – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svetlanapavluchkova@yandex.ru

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.). Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikolai_shalygo@yahoo.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 582.475.2:581.543

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-169-175>

Поступила в редакцию 07.10.2020

Received 07.10.2020

Р. И. Караневский¹, В. И. Торчик²

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Президиум НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ РИТМЫ ДЕКОРАТИВНЫХ ФОРМ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ПИХТ (*ABIES* MILL.) КОЛЛЕКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Аннотация. В статье представлена информация о фенологических ритмах представителей рода *Abies* Mill. и их декоративных форм, произрастающих на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Целью данного исследования было определить степень приспособленности интродуцентов к местным условиям и установить потенциал их возможного использования в озеленении страны.

Исследования показали, что у всех изученных видов пихт биологические ритмы совпадают с климатическими ритмами на территории Беларуси, что говорит о достаточной степени их адаптации. При этом *A. alba* и *A. nordmanniana* менее зимостойки и могут повреждаться весенними заморозками, *A. sibirica*, *A. concolor*, *A. fraseri* и *A. nephrolepis* ежегодно повреждаются болезнями и вредителями, а *A. holophylla*, *A. veitchii* и *A. koreana* потенциально пригодны для использования в зеленом строительстве страны. Среди декоративных форм ежегодно повреждаются заморозками *A. nordmanniana* ‘Lennartz’ и *A. alba* ‘Белопестрая’. Остальные формы пихт успешно прошли первичное испытание в условиях интродукции, адаптировались к местным условиям и являются пригодными для использования в озеленении территории Беларуси.

Ключевые слова: пихта, сезонное развитие, декоративные формы, климатические ритмы, устойчивость, интродукция

Для цитирования: Караневский, Р. И. Фенологические ритмы декоративных форм различных видов пихт (*Abies* Mill.) коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси / Р. И. Караневский, В. И. Торчик // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 169–175. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-169-175>

Ruslan I. Karaneuski¹, Uladzimir I. Torchik²

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

²Prezidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

PHENOLOGICAL RHYTHMS OF DECORATIVE FORMS OF DIFFERENT SPECIES OF FIRS (*ABIES* MILL.) COLLECTION OF THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

Abstract. The article provides information on the phenological rhythms of representatives of the genus *Abies* Mill. and their decorative forms growing on the territory of the Central Botanical Garden. The purpose of this study was to determine the degree of adaptability of introduced species to local conditions and to establish from the possible potential use in landscaping the country.

Studies have shown that in all studied species of fir, biological rhythms coincide with the climatic rhythms of Belarus, which indicates a sufficient degree of their adaptation to new conditions. At the same time, *A. alba* and *A. nordmanniana* are less winter-hardy and are damaged by spring frosts, while *A. sibirica*, *A. concolor*, *A. fraseri*, and *A. nephrolepis* are annually damaged by diseases and pests. *A. holophylla*, *A. veitchii* and *A. koreana* are potentially suitable for use in the country's green building. Among the ornamental forms, *A. nordmanniana* ‘Lennartz’ and *A. alba* ‘Belopestraya’ are annually damaged by frosts. The rest of the forms of fir have successfully passed the initial test under the conditions of introduction, adapted to local conditions and are suitable for use in landscaping the territory of Belarus.

Keywords: fir, seasonal development, decorative forms, climatic rhythms, stability, introduction

For citation: Karaneuski R. I., Torchik U. I. Phenological rhythms of decorative forms of different species of firs (*Abies* Mill.) collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 169–175 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-169-175>

Введение. Жизнедеятельность всех организмов на Земле подчинена биологической ритмичности. Особенно важными при изучении интродукции растений являются сведения о сезонном развитии изучаемых объектов. Л. И. Сергеев [1] указывал, что сезонная ритмичность, благодаря которой происходит взаимодействие растений со средой, является показателем степени их адаптации к тем или иным климатическим условиям. Лучше адаптируются те экзоты, чья сезонная ритмика развития протекает в те же сроки, что и ритмика климатических факторов, так как раннее наступление фенофаз чревато повреждением растений при поздних весенних заморозках, а позднее одревеснение побегов может привести к их обмерзанию при ранних осенних заморозках. И. Г. Серебряков утверждал, что в процессе филогенеза внутренняя ритмика развития растений, произрастающих в зоне умеренного климата, соответствует годовому ритму климатических факторов [2]. Годичные ритмы сохраняются некоторое время и тогда, когда растения попадают в среду с иной периодичностью, но позже могут вырабатывать новые ритмы жизнедеятельности соответственно изменившейся периодичности внешних условий, хотя эти ритмы менее четки и устойчивы [3]. Устойчивость и продуктивность интродуцированных растений напрямую зависит от степени соответствия их фенологических ритмов годовому ритму климатических условий [4].

Последние данные по изучению сезонного развития хвойных на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС НАН Беларуси) получены в 1960–1980 гг. путем фенологических наблюдений и биометрии побегов [5]. Поэтому целесообразно было провести фенологические исследования интродуцированных хвойных, в частности представителей рода Пихта (*Abies* Mill.) и их декоративных форм, на современном этапе, поскольку за последние 50 лет изменились не только годовые ритмы климатических условий, но и, как можно предположить, фенологические ритмы самих растений.

Наряду с этим полученные данные будут способствовать привлечению перспективных для зеленого строительства садовых форм различных видов, в том числе и пихт, которые отсутствуют на территории страны или представлены небольшим числом в виде импортного посадочного материала. Интродукция наиболее перспективных форм позволит увеличить разнообразие ассортимента растений для выращивания на территории республики, что в свою очередь обогатит культурную дендрофлору Беларуси.

Цель работы – изучить фенологические особенности пихт и их садовых форм, определить степень приспособленности этих интродуцентов к местным условиям и установить потенциал их возможного использования в зеленом строительстве страны.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований служили 9 садовых форм пихт из коллекции «Декоративные садовые формы древесных растений». Из них шесть форм пихты корейской ('Molli', 'Silberlock', 'Blauer Eskimo', 'Oberon', 'Pancake', 'Доктор Шкутко') и по одной форме пихты бальзамической 'Kiwi', Арнольда 'Kornika' и белой 'Белопестрая'. Также были изучены декоративные формы, которые проходят первичное испытание и не внесены в список коллекций ЦБС НАН Беларуси. Для объективной оценки особенностей роста и устойчивости садовых форм были исследованы видовые растения, а именно: пихта белая (*Abies alba* Mill.), пихта сибирская (*A. sibirica* Ledeb.), пихта кавказская (*A. nordmanniana* Spach), пихта одноцветная (*A. concolor* Lindl. ex Hildebr), пихта равночешуйчатая (*A. homolepis* Siebold & Zucc.), пихта цельнолистная (*A. holophylla* Maxim.), пихта Вича (*A. veitchii* Lindl.), пихта Фразера (*A. fraseri* Poir.), пихта белокорая (*A. nephrolepis* Maxim.) и пихта корейская (*A. koreana* Wilson).

Изучение сезонного развития проводили по методике фенологических наблюдений в ботанических садах СССР [6]. Определение болезней и идентификацию вредителей проводили, используя определитель встречаемых патогенов в насаждениях Беларуси [7]. Зимостойкость оценивали в баллах по шкале, разработанной Советом ботанических садов СССР [8].

Результаты и их обсуждение. Общеизвестно, что основными лимитирующими факторами для прохождения полного цикла развития интродуцированных растений являются температура и количество осадков, а именно их отклонение от устоявшихся в их естественном ареале норм. Территория Республики Беларусь находится в зоне умеренно-континентального климата, для которого характерны большая годовая амплитуда температуры воздуха (жаркое лето и холодная

зима), а также значительные изменения температуры в течение суток (особенно в переходные сезоны).

Раннее наступление весеннего периода, которое наблюдалось в 2018–2019 гг. (фактические температуры апреля и мая за годы наблюдений несколько превысили нормы среднемесячных температур и составили 9,1 °С при норме 7,2 °С в апреле и 15,6 °С при норме 13,3 °С в мае), позволило растениям раньше перейти в фазу набухания вегетативных и генеративных почек, в то же время поздние весенние заморозки, которые отмечались за время исследования, нанесли повреждения побегам некоторых декоративных форм.

Данные о зимостойкости растений и фенологических наблюдениях за вегетативными побегами представителей рода *Abies* Mill и их декоративных форм представлены в табл. 1.

Таблица 1. Зимостойкость и даты развития вегетативных побегов представителей рода *Abies* Mill. и их декоративных форм за годы наблюдений

Table 1. Winter hardiness and periods of development of vegetative shoots of representatives of the genus *Abies* Mill. and their decorative forms over the years of observation

Вид и его декоративные формы	Зимостойкость, баллы	Наблюдения за вегетативными побегами						
		Набухание почек	Распускание почек	Окончание роста побегов	Начало одревеснения побегов	Полное одревеснение побегов	Начало обособления хвои	Полное обособление хвои
<i>A. alba</i>	II	20.IV (30.IV)	27.IV (10.V)	03.VI (22.VI)	09.VI	15.VII (09.VIII)	03.V (14.V)	10.V
‘Pendula’	I	23.IV	04.V	04.VI	12.VI	24.VII	09.V	14.V
‘Белопестрая’	II	20.IV	26.IV	27.V	05.VI	18.VII	01.V	13.V
<i>A. sibirica</i>	I	13.IV (27.IV)	23.IV (11.V)	30.V (23.VI)	04.VI	04.VII (21.VII)	29.IV (17.V)	06.V
<i>A. nordmanniana</i>	II	21.IV	01.V	03.VI	14.VI	25.VII	04.V	12.V
‘Lennartz’	II	26.V	02.VI	01.VII	17.VII	02.VIII	04.VI	14.VI
<i>A. concolor</i>	I	20.IV (27.IV)	12.V (12.V)	17.VI (26.VI)	18.VI	22.VII (04.VIII)	08.V (17.V)	15.V
‘Compacta’	I	01.V	09.V	02.VI	09.VI	18.VII	12.V	22.V
<i>A. homolepis</i>	I	24.IV	13.V	11.VI	18.VI	21.VII	18.V	28.V
<i>A. holophylla</i>	I	19.IV (28.IV)	26.IV (08.V)	04.VI (27.VI)	09.VI	15.VII (30.VII)	01.V (13.V)	12.V
<i>A. veitchii</i>	I	18.IV (30.IV)	14.V (16.V)	17.VI (21.VI)	18.VI	19.VII (22.VII)	18.V (20.V)	27.V
<i>A. fraseri</i>	I	20.IV (27.IV)	07.V (12.V)	14.VI (24.VI)	17.VI	20.VII (05.VIII)	08.V (18.V)	20.V
<i>A. nephrolepis</i>	I	12.IV (20.IV)	01.V (04.V)	11.VI (21.VI)	17.VI	22.VII (04.VIII)	05.V (10.V)	15.V
<i>A. koreana</i>	I	19.IV	17.V	14.VI	14.VI	21.VII	20.V	29.V
‘Silberlocke’	I	24.IV	14.V	04.VI	13.VI	09.VII	24.V	01.VI
‘Oberon’	I	22.V	03.VI	26.VI	04.VII	02.VIII	04.VI	15.VI
‘Pancake’	I	14.V	25.V	18.VI	23.VI	14.VII	01.VI	12.VI
‘Tundra’	I	02.V	20.V	13.VI	22.VI	14.VII	27.V	12.VI
‘Molli’	I	02.V	25.V	16.VI	24.VI	14.VII	28.V	04.VI
‘Blauer Eskimo’	I	24.IV	21.V	17.VI	17.VI	14.VII	24.V	01.VI
‘Доктор Шкутко’	I	25.IV	17.V	12.VI	27.VI	26.VII	26.V	05.VI
‘Kristallkugel’	I	24.IV	22.V	18.VI	17.VI	16.VII	27.V	07.VI
<i>A. balsamea</i>	I	25.IV	01.V	29.V	18.VI	14.VII	04.V	16.V
‘Kiwi’								
<i>A. arnoldiana</i>	I	26.IV	14.V	07.VI	17.VI	15.VII	20.V	30.V
‘Kornika’								

Примечание. Здесь и в табл. 2 скобках приведены данные о фенологическом развитии пихт по Н. В. Шкутко (1959–1969 гг.).

Сравнительный анализ данных сезонного развития пихт показал, что в настоящее время фаза набухания вегетативных почек начинается на 7–14 дней раньше, чем в период с 1959 по 1969 г. Наблюдение за сезонным развитием растений показало, что раньше в фазу набухания почек вступали *A. sibirica* и *A. nephrolepis*, немного позже – *A. holophylla*, *A. veitchii*, *A. koreana*, *A. alba*, *A. nordmanniana*, *A. concolor* и *A. fraseri*. Самые поздние сроки набухания почек наблюдались у *A. homolepis*.

Средняя продолжительность периода скрытого роста побегов варьировалась от 7 (*A. alba*) до 28 (*A. koreana*) дней. Начало линейного роста побегов происходило не позднее чем через 2 дня после начала фазы разверзания почек, хотя принято считать, что этот период у пихты совпадает с периодом начала роста побегов.

Окончание роста побегов у *A. sibirica* отмечалось в конце III декады мая, у остальных представителей рода Пихта – в I декаде июня. Продолжительность роста побегов варьировалась от 32 до 36 дней. Следует отметить, что фаза линейного роста побегов в настоящее время наблюдается на 5–10 дней раньше (в зависимости от вида), чем в период с 1959 по 1969 г.

Самые ранние сроки начала одревеснения побегов отмечались у *A. alba*, *A. holophylla* и *A. sibirica*. Продолжительность одревеснения побегов у изученных видов варьировалась от 30 (у *A. sibirica*) до 36 (у *A. holophylla*) дней. В начале I декады июля полное одревеснение побегов было отмечено у *A. sibirica*, в середине II декады июля полностью вызревали побеги у *A. alba*, *A. holophylla*, в III декаде июля – у остальных видов пихт.

Фаза обособления хвои отмечалась в конце III декады апреля у *A. sibirica*, в I декаде мая у *A. alba*, *A. nordmanniana*, *A. concolor*, *A. holophylla*, *A. fraseri*, *A. nephrolepis* и в конце II декады мая у *A. homolepis*, *A. veitchii*, *A. koreana*. Процесс формирования хвои занимал от 7 до 10 дней. Разница в сроках начала обособления хвои по данным за 2018–2019 гг. и по данным, полученным Н. В. Шкутко, составляла от 2 до 18 дней.

Все исследуемые виды пихт зимостойки, хотя некоторые из них (*A. alba*, *A. nordmanniana*, *A. nephrolepis*) могут обмерзать при температурах ниже -25°C или при поздних весенних заморозках, что и было отмечено в период наблюдений. Молодые побеги *A. sibirica*, *A. nephrolepis* и *A. fraseri* повреждаются паутинным клещом (*Tetranychus urticae* Donnadieu), а хвоя *A. concolor* угнетается пихтовым хермесом (*Adelges pectinatae* Cholodkovsky).

У декоративных форм исследуемых видов пихт набухание вегетативных почек приходилось на II–III декаду апреля ('Pendula', 'Белопестрая', 'Silberlocke', 'Kiwi', 'Blauer Eskimo', 'Доктор Шкутко', 'Kristallkugel', 'Kornika'), а у некоторых – на I–III декаду мая ('Lennartz', 'Compacta', 'Oberon', 'Pancake', 'Tundra', 'Molli'). Продолжительность скрытого роста побегов варьировалась от 6 ('Белопестрая', 'Lennartz' и 'Kiwi') до 28 ('Blauer Eskimo') дней. Самые ранние сроки окончания линейного роста побегов у садовых форм растений отмечались у пихт 'Белопестрая', и 'Kiwi', самые поздние – у 'Lennartz'. Продолжительность линейного роста побегов варьировалась от 20 до 30 дней.

Период начала одревеснения побегов у декоративных форм отмечался в I–III декаде июня, кроме садовой формы пихты 'Lennartz' и пихты 'Oberon' (I–II декада июля). Длительность полного одревеснения побегов варьировалась от 17 до 36 дней. Обособление хвои у исследуемых культиваров приходилось на I–II декаду мая и начало I декады июня и длилось от 10 ('Kiwi') до 20 ('Silberlocke') дней.

Все исследуемые декоративные формы представителей рода *Abies* Mill. зимостойки, за исключением *A. nordmanniana* 'Lennartz' и *A. alba* 'Белопестрая', у которых были обнаружены обмерзшие побеги после ранних осенних и поздних весенних заморозков соответственно. Болезней и вредителей на исследуемых культиварах не выявлено.

Данные о урожайности растений и фенологических наблюдениях над генеративными побегами представителей рода *Abies* Mill. и их декоративных форм представлены в табл. 2.

Анализ табл. 2 показал, что генеративные почки у всех представителей рода *Abies* Mill. (за исключением *A. fraseri*) на территории ЦБС начинают набухать в конце I декады апреля. Начало пыления у всех исследуемых растений приходилось на начало I декады мая и длилось 6–8 дней. Согласно полученным данным, сроки начала и окончания пыления пихт в 1959–1969 гг. отли-

чаются от сроков фенологических наблюдений 2018–2019 гг. примерно на 10–15 дней. Раньше всех в стадию формирования шишки перешли *A. sibirica* и *A. homolepis*, позже всех – *A. veitchii*, *A. nephrolepis*, *A. fraseri* и *A. koreana*.

Т а б л и ц а 2. Урожайность и даты развития генеративных побегов представителей рода *Abies* Mill. и их декоративных форм за годы наблюдений

Table 2. Productivity and periods of development of generative shoots of representatives of the genus *Abies* Mill. and their decorative forms over the years of observation

Вид и его декоративные формы	Урожайность, баллы	Наблюдения за генеративными побегами							
		Набухание почек	Распускание почек	Начало пыления	Конец пыления	Формирование шишки	Опробкование чешуй	Полное созревание шишек	Рассеивание семян
<i>A. alba</i>	3	09.IV	22.IV (09.V)	04.V (16.V)	11.V (22.V)	24.V	12.VI	20.VIII (28.VIII)	02.IX (12.IX)
‘Pendula’	0	24.IV	27.IV	04.V	10.V	–	–	–	–
<i>A. sibirica</i>	3	10.IV	21.IV (11.V)	01.V (15.V)	07.V (26.V)	19.V	18.VI	10.VIII (07.IX)	25.VIII (16.IX)
<i>A. nordmanniana</i>	4	10.IV	20.IV	01.V	08.V	24.V	16.VI	21.VIII	02.IX
<i>A. concolor</i>	3	10.IV	22.IV (26.IV)	05.V (16.V)	11.V (27.V)	20.V	02.VI	15.VIII (07.IX)	30.VIII (13.IX)
<i>A. homolepis</i>	2	08.IV	20.IV	01.V	07.V	19.V	01.VI	30.VIII	10.IX
<i>A. holophylla</i>	4	09.IV	22.IV (08.V)	01.V (12.V)	07.V (19.V)	22.V	12.VI	29.VIII	10.IX
<i>A. veitchii</i>	3	07.IV	16.IV (12.V)	01.V (16.V)	07.V (23.V)	26.V	30.V	30.VIII (31.VIII)	10.IX (08.IX)
<i>A. fraseri</i>	2	19.IV	25.IV (03.V)	01.V (14.V)	07.V (22.V)	26.V	12.VI	17.VIII (02.IX)	30.VIII (08.IX)
<i>A. nephrolepis</i>	2	09.IV	21.IV (03.V)	01.V (13.V)	07.V (19.V)	26.V	09.VI	18.VIII (02.IX)	30.VIII (05.IX)
<i>A. koreana</i>	3	10.IV	25.IV	01.V	08.V	25.V	12.VI	29.VIII	10.IX
‘Silberlocke’	2	09.IV	23.IV	03.V	12.V	23.V	30.V	28.VIII	10.IX
‘Tundra’	1	29.IV	04.V	13.V	17.V	20.V	07.VI	05.IX	13.IX
‘Molli’	0	07.IV	23.IV	15.V	23.V	–	–	–	–
<i>A. arnoldiana</i>	1	–	–	–	–	23.V	27.VI	30.VIII	09.IX
‘Kornika’									

Полное созревание шишек у *A. sibirica* приходилось на I декаду августа, у *A. alba*, *A. nordmanniana*, *A. concolor*, *A. nephrolepis* и *A. fraseri* – на II декаду августа, у *A. koreana*, *A. veitchii*, *A. holophylla* и *A. homolepis* – на III декаду августа. Рассеивание семян раньше всех началось у *A. sibirica*, *A. concolor*, *A. fraseri*, позже всех – у *A. koreana*, *A. veitchii*, *A. holophylla* и *A. homolepis*.

Семенное потомство было отмечено у всех представителей рода Пихта. Урожайность варьировалась от 2 до 5 баллов. Обильный урожай шишек наблюдался у *A. holophylla* и *A. nordmanniana*, слабый – у *A. homolepis*, *A. fraseri*, *A. nephrolepis*. Сбор урожая приходился на III декаду августа у *A. sibirica*, *A. fraseri*, *A. concolor* и *A. nephrolepis*, на I–II декаду сентября – у остальных видов пихт. От начала формирования шишек до полного их созревания проходило около 60 дней. Разница в сроках созревания и рассеивания шишек, по данным за 2018–2019 гг. и данным, полученным Н. В. Шкутко, составляла около 10–12 дней. Следует отметить, что шишки *A. sibirica* и *A. concolor* ежегодно повреждаются пихтовой огневкой (*Dioryctria abietella* Denis & Schiffermuller).

Среди исследуемых декоративных форм представителей рода *Abies* Mill. фазы развития генеративных побегов были отмечены только у пихт ‘Pendula’, ‘Silberlocke’, ‘Tundra’, ‘Molli’ и ‘Kornika’. При этом у садовых форм ‘Pendula’ и ‘Molli’ развивались только микростобилы, у пихты ‘Kornika’ – только макростобилы, а полный этап развития генеративных побегов прошли только формы пихт ‘Silberlocke’ и ‘Tundra’. Первыми в стадию набухания генеративных почек вступили садовые формы ‘Molli’ и ‘Silberlocke’, позже – ‘Pendula’ и ‘Tundra’. Начало и окон-

чение пыления культиваров совпадало со сроками начала и окончания пыления у их видовых форм и продолжалось 6–7 дней. Формирование макростробил у декоративных форм пришлось на середину II декады мая, а сбор урожая – на конец августа и начало сентября. Несмотря на то что садовые формы ‘Silberlocke’ и ‘Tundra’ проходят полный цикл генеративного развития побегов, жизнеспособные семена у данных культиваров не формируются. Повреждения шишек вредителями за время исследований не отмечено.

Заключение. Согласно результатам исследований, виды одного рода могут иметь существенные фенологические различия, что напрямую связано с их биологическим происхождением. В условиях Беларуси раньше всех начинают вегетацию виды сибирской флоры, позже – центрально-европейского и японо-корейского ареала. Сроки для одного и того же вида в разные годы также могут существенно меняться, что, по-видимому, связано с колебаниями температурного режима весной. Исследования показали, что в 2018 г., когда наблюдалась теплая весна, расхождения в сроках вегетации разных видов меньше, чем в холодную затяжную весну, которая наблюдалась в 2019 г. Несмотря на то что разница между сроками развития побегов в настоящее время и в период с 1959 по 1969 г. составила около 10–15 дней, как и 50 лет назад, биологические ритмы изученных растений совпадают с их климатическими ритмами на территории Беларуси, что свидетельствует о постоянном изменении сроков развития побегов в соответствии с изменениями климата. При этом *A. alba* и *A. nordmanniana* менее зимостойки и повреждаются весенними заморозками, *A. sibirica*, *A. concolor*, *A. fraseri* и *A. nephrolepis* ежегодно повреждаются болезнями и вредителями, а *A. homolepis* дает слабый урожай шишек. *A. holophylla*, *A. veitchii* и *A. korreana* являются потенциально пригодными для использования в зеленом строительстве страны.

У декоративных форм фазы развития вегетативных и генеративных побегов начинаются и заканчиваются несколько позже, чем у их видовых растений. Среди всех садовых форм *A. nordmanniana* ‘Lennartz’ и *A. alba* ‘Белопестрая’ ежегодно повреждаются весенними заморозками. Остальные формы пихт успешно прошли первичное испытание в условиях интродукции, адаптировались к местным условиям, морозостойки, не повреждаются болезнями и вредителями и проходят полный цикл развития.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования видовых растений пихт и их садовых форм в зеленом строительстве, являются основанием для их районирования на территории республики и организации производства отечественного посадочного материала с целью импортозамещения.

Список использованных источников

1. Сергеев, Л. И. Физиология и биохимия зимостойкости древесных растений / Л. И. Сергеев. – Уфа : Башкир. ф-л АН СССР, 1974. – 159 с.
2. Серебряков, И. Г. Соотношение внутренних и внешних факторов в годичном ритме развития растений / И. Г. Серебряков // Бот. журн. – 1966. – Т. 51, № 7. – С. 923–938.
3. Аврорин, Н. А. Переселение растений на Полярный север. Эколого-географический анализ / Н. А. Аврорин. – Л. : Изд-во АН СССР, 1956. – 286 с.
4. Гурский, А. В. Основные итоги интродукции древесных растений в СССР / А. В. Гурский. – Л. : Изд-во АН СССР, 1957. – 305 с.
5. Шкутко, Н. В. Хвойные Белоруссии: экол.-биол. исследования / Н. В. Шкутко. – Минск : Навука і тэхніка, 1991. – 264 с.
6. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР / Академия наук СССР, Совет бот. садов СССР : отв. ред. П. И. Лапин. – М. : ГБС АН СССР, 1975. – 27 с.
7. Болезни и вредители декоративных растений в насаждениях Беларуси / В. А. Тимофеева [и др.]. – Минск : Беларусь. навука, 2014. – 185 с.
8. Лапин, П. И. Оценка перспективности интродукции древесных растений по данным визуальных наблюдений / И. П. Лапин, С. В. Сиднева // Опыт интродукции древесных растений : сб. науч. работ / отв. ред. П. И. Лапин. – М., 1973. – С. 7–67.

References

1. Sergeev L. I. *Physiology and biochemistry of winter hardiness of woody plant*. Ufa, Bashkir Branch of the USSR Academy of Sciences, 1974. 159 p. (in Russian).
2. Serebryakov I. G. The ratio of internal and external factors in the annual rhythm of plant development. *Botanicheskii zhurnal* [Botanical journal], 1966, vol. 51, no. 7, pp. 923–938 (in Russian).

3. Avrorin N. A. *Relocation of plants to the Polar North. Ecological and geographical analysis*. L., USSR Academy of Sciences Publishing House, 1956. 285 p. (in Russian).
4. Gurskii A. V. *The main results of the introduction of woody plants in the USSR*. L. USSR Academy of Sciences Publishing House, 1957. 305 p. (in Russian).
5. Shkutko N. V. *Conifers of Belarus: ecological and biological research*. Minsk, Navuka i tekhnika Publ., 1991. 264 p. (in Russian).
6. Lapin P. I. (ed.). *The methodology of phenological observations in the botanical gardens of the USSR*. Moscow, Main Botanical Garden of the USSR Academy of Sciences, 1975. 27 p. (in Russian).
7. Timofeeva V. A., Dishuk N. G., Voinilo N. V., Linnik L. I., Golovchenko L. A. *Diseases and pests of ornamental plants in plantations of Belarus*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2014. 185 p. (in Russian).
8. Lapin P. I., Sidneva S. V. Assessment of the prospects of introduction of woody plants according to visual observations. *Опыт интродукции древесных растений: сборник научных работ* [The experience of introduction of woody plants: a collection of scientific papers]. Moscow, 1973, pp. 7–67 (in Russian).

Информация об авторах

Караневский Руслан Игоревич – аспирант. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ruskar1992@gmail.com. Тел. 3321642

Торчик Владимир Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, академик-секретарь. Президиум НАН Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dendro@tut.by

Information about the authors

Ruslan I. Karaneuski – Postgraduate student. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ruskar1992@gmail.com

Uladzimir I. Torchyk – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Academic Secretary. Prezidium of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dendro@tut.by

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

УДК 581.143:581.14.6

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-176-185>

Поступила в редакцию 11.01.2021

Received 11.01.2021

Е. А. Седун¹, С. Ш. Абдирахимова², А. В. Зубарев¹, Е. В. Спиридович¹,
В. Н. Решетников¹, С. Г. Шеримбетов³, Э. Р. Назирова³

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент, Республика Узбекистан

³Институт биоорганической химии им. академика А. С. Садыкова АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан

ОСОБЕННОСТИ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН И РАЗВИТИЯ ПРОРОСТКОВ ДЕРЕЗЫ РУССКОЙ (*LYCIUM RUTHENICUM* MURR.) В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ И В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Аннотация. Дереза русская (*Lycium ruthenicum* Murr.) – кустарниковое растение, распространившееся на территории Аральского моря, высохшего вследствие высокой засоленности почвы и сухого и резко-континентального климата.

Собраны плоды и изучены особенности прорастания семян галофита дерезы русской (*Lycium ruthenicum* Murr.) в стерильных и нестерильных условиях. Для проращивания годичных семян данного вида оптимальными являются 16-часовой фотопериод и температура 25 °С. Всхожесть семян в нестерильных условиях составила: у четырехгодичных – 46 %; у двухгодичных – 83; у одногодичных – 96 %. Показано, что растения *L. ruthenicum* сохраняют всхожесть до 4 лет и более, на основании чего семена данного вида были отнесены нами к истинно-ортодоксальным.

При введении в культуру *in vitro* установлено, что многоступенчатая стерилизация значительно снижает жизнеспособность семян и проростков *Lycium ruthenicum*, а следовательно, и их всхожесть (почти на 40 %). Оптимальной средой для стабильного развития микропобегов (без аномалий, без каллусообразования и инициации корнеобразования) оказалась питательная среда Мурасиге–Скуга (МС) с добавлением 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина, без сахарозы. Для поддержания образцов коллекции *in vitro* использовали половинную среду МС без гормонов, без сахарозы, пониженную положительную температуру (4 °С), освещенность ~500 лк и фотопериод 8 ч.

Установлено, что образцы *Lycium ruthenicum* могут быть использованы для разработки методов клонального микроразмножения; генотипирования образцов и выявления молекулярных биомаркеров устойчивости растений к засоленности почвы; морфо-биологического изучения *ex vitro* растений, устойчивых к соляному стрессу.

Ключевые слова: территория высохшего Аральского моря, дереза русская (*Lycium ruthenicum* Murr.), плоды, семена, всхожесть семян, культура *in vitro*

Для цитирования: Особенности прорастания семян и развития проростков дерезы русской (*Lycium ruthenicum* Murr.) в лабораторных условиях и в культуре *in vitro* / Е. А. Седун [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 176–185. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-176-185>

Ekaterina A. Sedun¹, Sayyora Sh. Abdirakhimova², Andrey V. Zubarev¹, Elena V. Spiridovich¹,
Vladimir N. Reshetnikov¹, Sanjar G. Sherimbetov³, Elmira R. Nazirova³

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

²National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulubek, Tashkent, Republic of Uzbekistan

³Institute of Bioorganic Chemistry named after Acad. A. S. Sadykov of the Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

FEATURES OF SEED GROWTH AND DEVELOPMENT OF SPROUTINGS OF THE RUSSIAN DEREZA (*LYCIUM RUTHENICUM* MURR.) UNDER LABORATORY CONDITIONS AND IN CULTURE *IN VITRO*

Abstract. Russian dereza (*Lycium ruthenicum* Murr.) is a shrub plant that spreads on the territory of the dried Aral Sea in conditions of high soil salinity, dry and sharply continental climate.

The fruits were collected and the features of germination of seeds of the russian dereza halophyte (*Lycium ruthenicum* Murr.) Under sterile and non-sterile conditions were studied. The optimal temperature and illumination regime for the germination of annual seeds of this species is a 16-hour photoperiod and a temperature of 25 °C, the germination of seeds in non-sterile conditions was: 4-year-old – 46 %; 2-year – 83; one-year – 96 %. It has been shown that *L. ruthenicum* plants remain viable for up to 4 years or more, on this basis, we attributed the seeds of this species to truly orthodox.

When introduced into culture *in vitro*, it has been shown that multi-stage sterilization significantly reduces the viability of seeds and seedlings of *Lycium ruthenicum* Murr., which leads to a decrease in seed germination by up to 40 %. The optimal

nutrient medium for the stable development of microshoots without anomalies, callus formation and initiation of root formation was MS with the addition of 1.0 mg/l 6-BAP to the nutrient medium, without sucrose. Maintaining the samples in the *in vitro* collection is carried out on a half-MS medium without hormones, without sucrose at a low positive temperature of 4 °C, illumination of ~500 lx and a photoperiod of 8 hours.

The samples of *L. ruthenicum in vitro* can be used to develop methods of clonal micropropagation; for genotyping of samples and identification of molecular biomarkers of plant resistance to soil salinity; in the *ex vitro* morpho-biological study of plants resistant to salt stress.

Keywords: territory of the dried up Aral Sea, russian dereza (*Lycium ruthenicum* Murr.), Fruits, seeds, seed germination, *in vitro* culture

For citation: Sedun E. A., Abdirakhimova S. Sh., Zubarev A. V., Spiridovich E. V., Reshetnikov V. N., Sherimbetov S. G., Nazirova E. R. Features of seed growth and development of sproutings of the russian dereza (*Lycium ruthenicum* Murr.) under laboratory conditions and in culture *in vitro*. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 176–185 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-176-185>

Введение. Распространение растений на территории высохшего Аральского моря происходит различными способами. Несмотря на высокую засоленность почвы на данной территории, на сухой и резко-континентальный климат, многие виды растений постепенно осваивают территории, освобожденные от воды. Особый интерес вызывают виды галофитов, быстро занимающих ареал с высоким засолением почвы. Среди них – дереза русская, или Годжи.

Дереза русская (*Lycium ruthenicum* Murr.) – кустарниковое растение высотой до 2 м, с ветвистым стеблем с пепельно-серой корой и сильно растопыренными веточками (рис. 1) с изогнутыми верхними кончиками. Листья зеленые, мясистые, в форме колючек, 0,5–2,5 см длиной, 1–3 мм шириной, на верхушке тупые, постепенно сужающиеся к основанию. На старых ветвях они развиваются из шишковидных укороченных побегов, а на молодых – из почек по обе стороны колючек или на облиственных колюче-заостренных побегах.

Цветки расположены на цветоножках длиной 5–8 мм вместе с листьями, по одному или пучками (по два-три) по обе стороны колючек. Чашечка 3–5 мм длиной, узкоколокольчатая, разрезанная на 2–3 неправильные доли, которые по краю иногда короткореснитчатые, реже неясно пятизубчатые. Венчик 13–15 мм в длину, бело-чернильного цвета. Плоды – ягоды черного цвета, 5–8 мм в диаметре, многосеменные. Семена черного цвета, длиной 2 мм. В местных условиях цветет в мае–июне, плоды созревают с июня по ноябрь [5, 6].

Экологическая анатомия семян растения *L. ruthenicum* изучена А. А. Бутник с соавт. [7]. Прорастание эпигеальное, всходы в виде двух мясистых линейно-ланцетных, на верхушке закругленных семядолей длиной 4–5 мм, шириной 2 мм (рис. 2, а) появляются в конце марта – начале апреля при прямом солнечном освещении.



Рис. 1. *L. ruthenicum* на территории Южного Арала: а – популяция растения; б – цветение, с – плоды

Fig. 1. *L. ruthenicum* on the territory of the Southern Aral: a – population of plant; b – flowering; c – fruits

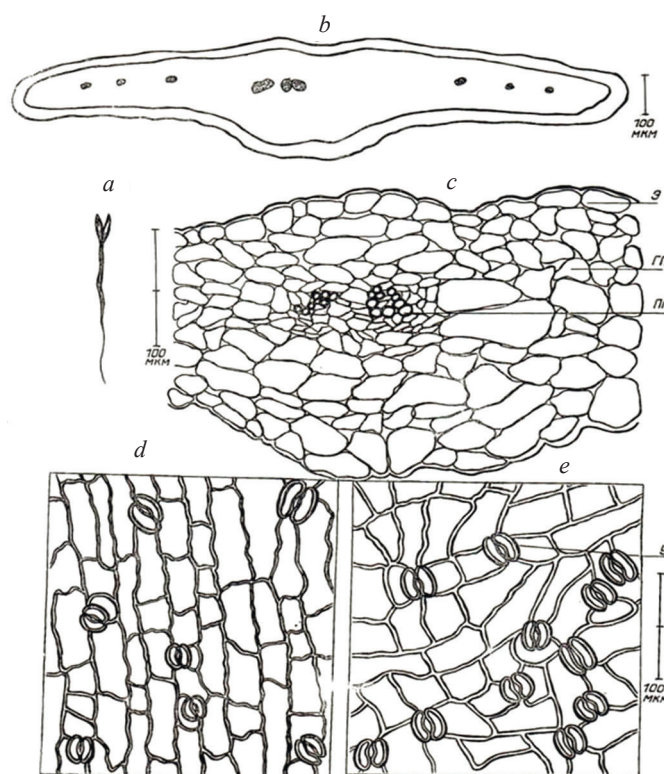


Рис. 2. Внешний вид (a) и строение всходов (b–e) *L. ruthenicum* (b – схема поперечного среза семядоли, c – семядоля проростка при большом увеличении, поперечный срез, d – адаксиальная эпидерма, e – адаксиальная эпидерма на парадермальном срезе) [7]

Fig. 2. Appearance (a) and structure of seedlings (b–e) *L. ruthenicum* (b – diagram of the cross section of the cotyledon, c – seedling cotyledon at high magnification, transverse cut, d – adaxial epidermis, e – adaxial epidermis on the paradermal cut) [7]

Семядоли всходов зеленые, голые. Эпидерма однорядная, клетки ее на парадермальных срезах 4-угольные, удлиненные, с тонкими слабоизвилистыми стенками (рис. 2, d, e). Замыкающие клетки устьица абаксиальной эпидермы крупнее, чем адаксиальной. Устьица аномоцитные и гемипарацитные. На 1 мм² приходится 95 устьиц адаксальной эпидермы и 63 адаксиальной. Мезофилл изогубчатый, состоит из 7–8 рядов клеток (рис. 2, b, c). Проводящие пучки – главный и по три боковых – расположены в средней центральной плоскости семядоли. Медианный пучок сдвоенный, в каждой группе по 9–10 спутниковых сосудов диаметром 10–12 мкм. Семядольные следы однопучковые, однолакунные [7].

Всхожесть семян составляет более одного года [7, 8]. В составе семян растения *L. ruthenicum*, распространенного на территории Аральского моря, выявлено 38 химических элементов [9]. На основе анализа изменений на уровне антиоксидантных ферментов было изучено влияние GeO₂ на солеустойчивость растения *L. ruthenicum*. Так, было установлено, что в период всхода семян и роста саженцев экзогенный Ge защищает растения *L. ruthenicum* от окислительного повреждающего действия соли [10].

На биологию произрастания семян влияют многофакторные процессы, в том числе экзогенные (температура, влажность, солнечный свет, условия хранения) и эндогенные (строение кожуры семени, физиологическое состояние в период всхода и др.) факторы [1, 4].

Цель нашего исследования – определение влияния сроков хранения и температуры на лабораторную всхожесть и энергию прорастания семян растения *Lycium ruthenicum* Murr., широко распространенного на территории Южного Арала и Приаралья, а также изучение их роста и развития в условиях *in vitro* с целью сохранения в Банке семян и успешной интродукции для флоры Беларуси.



Рис. 3. Сухие плоды *L. ruthenicum*
Fig. 3. Dry fruits of *L. ruthenicum*

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись семена и плоды растения *L. ruthenicum*, собранные в 2015, 2018 и 2019 гг. на территории Южного Арала. Высушенные плоды сбора 2019 г. были привезены из Узбекистана и переданы для исследования в лабораторию прикладной биохимии Центрального ботанического сада НАН Беларуси для биотехнологических работ (рис. 3).

Для определения лабораторной всхожести семян использовали методы М. К. Фирсовой [2] и О. Н. Гранитовой [3]. Семена растения (100 шт.) выращивали в чашках Петри с фильтровальной бумагой, увлажненной дистиллированной водой. Опыты проводили на базе Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека при температуре воздуха $25 \pm 1^\circ\text{C}$ с 16-часовым фотопериодом.

Процесс введения растительного объекта в культуру *in vitro* включал два этапа:

- а) стерилизацию (деконтаминацию) растительного материала жесткими стерилизующими агентами с целью получения чистого от бактериальной и грибной инфекции материала;
- б) культивирование экспериментального материала *in vitro* с применением стандартных методик, общепринятых в биотехнологии растений, с использованием агаризованных питательных сред, дополненных регуляторами роста [11, 12].

Результаты и их обсуждение. Качество и жизнеспособность сформировавшихся плодов и семян являются важными критериями, которые необходимо учитывать как перед закладкой их на краткосрочное и/или длительное хранение, так и перед выращиванием из них новых растений. Основными показателями жизнеспособности семян являются процент их прорастания (всхожесть) и параметр «силы семян» (энергия прорастания).

В зависимости от погодных условий семена *L. ruthenicum* созревают в период с первой половины июня до середины сентября. Плоды многосеменные, семена почковидные, черного или коричневого цвета, длиной 2 мм, шириной 1,5–1,8 мм.

Анализ ряда морфологических показателей собранных в разное время плодов *L. Ruthenicum* показал, что вес плодов и семян зависит от годовых погодных условий (табл. 1).

Таблица 1. Размер и масса плодов и семян *L. ruthenicum* ($M \pm m$)
Table 1. Size and weight of fruits and seeds of *L. ruthenicum* ($M \pm m$)

Год	Плод		Масса 1000 плодов, г ($n = 5$)	Семя		Масса 1000 семян, мг ($n = 5$)
	Длина, мм	Ширина, мм		Длина, мм	Ширина, мм	
2015	2–7	2–5	0,078	0,7–1,2	0,8–1	0,89
2018	3–8	2–8	0,089	1–2	0,8–1,2	0,95
2019	3–9	2–8	0,097	1–2	1–1,5	1,2

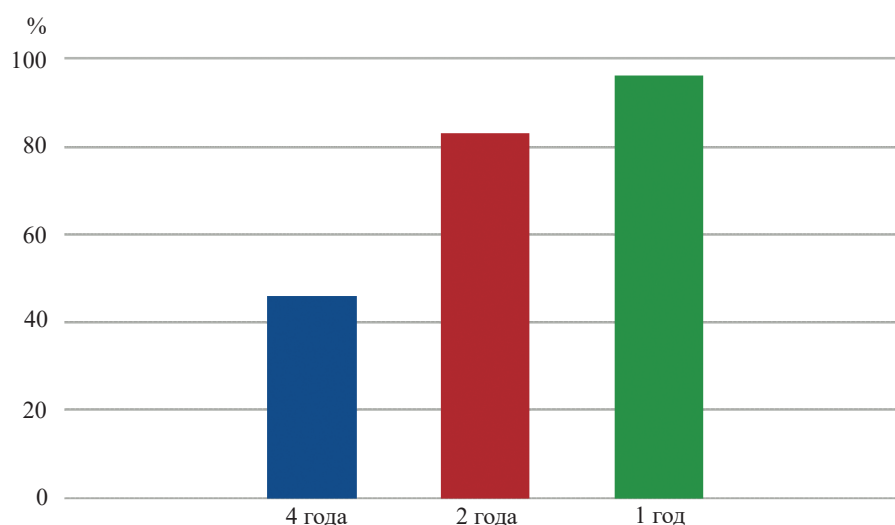


Рис. 4. Лабораторная всхожесть семян *L. ruthenicum* при температуре 25 ± 2 °C в зависимости от сроков хранения

Fig. 4. Laboratory germination of *L. ruthenicum* seeds at a temperature of 25 ± 2 °C, depending on the storage period

У семян *L. ruthenicum*, которые хранились в течение 4 лет, прорастание началось на 7-е сутки и составило 46 %, а семена, которые хранились 1 и 2 года, проросли на 5-е сутки (всхожесть семян с двухлетним хранением – 83 %, с годичным хранением – 96 %). Полное прорастание семян было зафиксировано на 5–7-е сутки с начала прорастания.

Показано, что плоды и семена (репродуктивные диаспоры) растения *L. ruthenicum* сохраняют всхожесть до 4 лет и более, на основании чего семена данного вида были отнесены нами к истинно-ортодоксальным [13] – к группе мезобиотиков (к ней относятся виды, семена которых сохраняются от 3 до 15 лет). К этой группе относится подавляющее большинство культурных и возделываемых видов растений [14].

Стерилизация растительного материала. Семена растения *L. ruthenicum* вводили в культуру *in vitro*. Высушенные плоды *L. ruthenicum* замачивали на 12 ч в дистиллированной воде и растирали на мелком сите, чтобы очистить от плодовой мякоти семена, которые в дальнейшем подвергали стерилизации. Семена помещали в 2 %-ный раствор 72 %-ного хозяйственного мыла на 5–10 мин. На следующем этапе семена дважды отмывали по 3 мин в дистиллированной воде и переносили в стерильные условия в ламинар-бокс. В ламинаре растительный материал помещали на 5 мин в 0,1 %-ный раствор фунгицида «Прозаро», после чего дважды отмывали по 3 мин в воде. Семена после отмывки в течение 1,5–3 мин экспонировали в 0,1 %-ном растворе AgNO_3 . После обработки растительный материал дважды отмывали в дистиллированной воде и переносили непосредственно на питательную среду. Далее семена переносили в чашки Петри на безгормональную питательную среду Мурасиге–Скуга (МС) с половинным содержанием солей [13], без сахарозы, но с добавлением 7,5 г/л агара (Sigma) в качестве уплотняющего вещества. Перед автоклавированием значение pH среды доводили до 5,6–5,8.

Первичное культивирование. Полученный материал *L. ruthenicum* (стерильные семена) переносили на модифицированные питательные среды, базисом для которых являлась среда МС. Индукцию развития наблюдали на питательной среде МС без добавления регуляторов роста.

Из посаженных на питательную среду 25 семян проросли лишь 10, из которых 2 были загрязнены бактериальной инфекцией и не годились для дальнейшего выращивания в культуре *in vitro*. Всхожесть семян в асептических условиях – 40 %, степень контаминации – 16 %.

При проращивании в условиях *in vitro* доля нормально проросших семян была достоверно ниже по сравнению с аналогичным показателем в нестерильных условиях. При использовании любого из указанных сочетаний стерилизующих агентов возникают аномалии в развитии проростков. Снижение всхожести может быть связано с высокой степенью токсичности использованных стерилизующих веществ и с их негативным влиянием на зародыш семени.



Рис. 5. Проростки *L. ruthenicum* через 14 сут после посева

Fig. 5. Seedlings of *L. ruthenicum* 14 days after sowing



Рис. 6. Растение *L. ruthenicum* в культуре *in vitro*, возраст – 4,5 мес.

Fig. 6. Plant *L. ruthenicum* *in vitro* culture, age – 4.5 months

Первые ростки *L. ruthenicum* длиной около 1 см появились спустя 14 сут после посева. Проростки пассировали в культуральные сосуды (180 мл) на питательную среду, отличающуюся от среды введения наличием 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП). Спустя 4 мес. отмечались активный рост и развитие пассированных проростков в условиях *in vitro* и формирование у них развитой корневой системы. Это свидетельствует о пригодности для культивирования предложенной питательной среды и об успешном введении *L. ruthenicum* в стерильную культуру (рис. 6).

Индукция развития и получение микропобегов. После культивирования микрклональных растений черенки русской на питательной среде МС с добавлением 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л для успешной индукции развития и получения микропобегов необходим подбор питательных сред иного минерального и гормонального состава, поскольку на этом этапе у растений активизируются другие морфофизиологические механизмы. Для выполнения этого этапа исследования роста и развития *L. ruthenicum* в культуре *in vitro* использовали восемь питательных сред, отличающихся содержанием гормональных веществ и сахарозы (табл. 2).

На указанные питательные среды пассировали черенки *L. ruthenicum* длиной 10–15 мм с удаленными листовыми пластинками. После 2 мес. культивирования при 25 ± 2 °C, освещенности 3000 лк, фотопериоде 16 ч были получены результаты, представленные в табл. 2 и на рис. 7.

Т а б л и ц а 2. Влияние состава питательной среды на развитие и рост побегов-регенерантов на стадии микроразмножения после 2 мес. культивирования

Table 2. Influence of the composition of the nutrient medium on the development and growth of regenerated shoots at the stage of micropropagation after 2 months of cultivation

Вариант среды		К-во эксплантов	Каллусогенез	Морфология листа	Ризогенез, %
T01	МС, 1 мг/л 6-БАП, 10 г/л сахарозы	20	Есть в основании черенков, при соприкосновении листьев со средой. Размер 4–5 мм у основания, до 5–10 мм у листьев. Зеленый. Частота 100 %	Листья плоские, зеленые, длиной 4–15 мм, шириной 1–6 мм. Нижние листья более широкие, верхние – узкие и короткие	20
T02	МС, 1 мг/л 6-БАП, 30 г/л сахарозы	20	Есть в основании черенков, размер 5–17 мм. Частота 100 %	Листья чешуевидные, фиолетовые, длиной 1–3 мм	0
T03	1/2 МС, 1 мг/л 6-БАП, 10 г/л сахарозы	20	В основании черенков нет, при соприкосновении нижних листьев со средой – зеленый каллус размером 5–8 мм. Частота 50 %	Листья чешуевидные, фиолетовые, длиной 1–3 мм. Листья, которые развились из узлов, соприкасавшихся с питательной средой, длиной до 12 мм	0
T04	1/2 МС, 1 мг/л 6-БАП, 30 г/л сахарозы	20	В основании черенков нет, при соприкосновении нижних листьев со средой – зеленый каллус размером 5–8 мм. Частота 75 %	Листья чешуевидные, фиолетовые, длиной 1–3 мм	0
R01	1/2 МС, 0,2 мг/л индолилмасляной кислоты, 15 г/л сахарозы	20	В основании черенка – 4–5 мм, зеленый; при соприкосновении со средой – нет. Частота 100 %	Листья плоские, темно-зеленые, с нижней стороны с буроватым оттенком, длиной 7–12 мм, шириной 1–2 мм	100
R02	1/2 МС, 0,5 мг/л индолилмасляной кислоты, 15 г/л сахарозы	20	В основании черенка – 4–5 мм, зеленый; при соприкосновении со средой размер нижних листьев 5–7 мм. Частота 100 %	Листья фиолетовые, длиной 3–7 мм, шириной 1–2 мм	0
№ 10м	1/2 МС, 0,5 мг/л зеатина, 10 г/л сахарозы	20	Трудно определить, серовато-белого цвета, размер 5–9 мм. Частота 100 %	Листья зеленые, с нижней стороны фиолетовые, длиной 6–8 мм, шириной 1–2 мм	0
б/б	МС без гормонов, без сахарозы	20	Отсутствует	Листья плоские, зеленые, длиной 8–20 мм, шириной 1–2 мм	100

При подборе сред для эффективного культивирования и регенерации дерезы русской была выявлена чувствительность культуры к фитогормональному составу среды и содержанию сахарозы.

Экспланты развивались неравномерно и неодинаково. Высота побегов, культивированных на изученных средах, варьировалась незначительно – от 1,0 до 2,5 см, зато размеры листьев существенно изменялись и наблюдались различия по цвету (от зеленых до фиолетовых), что говорит о различиях в накоплении хлорофиллов и антоцианов при определенных условиях. Наблюдались следующие изменения в морфологии листа: при культивировании на среде T01 – листья плоские, зеленые; при культивировании на средах T02, T03, T04 – чешуевидные, фиолетовые.

Культивирование эксплантов на всех питательных средах, кроме безгормональной, в течение 60 сут привело к повышенному каллусогенезу на некоторых вариантах питательных сред.

По литературным данным, добавление 0,75 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК) используется для стимулирования этапа укоренения [16]. В случае R01 (1/2 МС, 0,2 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы) отмечалось 100 %-ное корнеобразование, но листья были плоскими, темно-зелеными, с нижней стороны – с буроватым оттенком. В случае R02 (1/2 МС, 0,5 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы), несмотря на присутствие ИМК, корнеобразования не происходило, листья были плоскими, имели насыщенный фиолетовый окрас, размер их составлял 3–7 мм в длину, 1–2 мм в ширину, во всех случаях в основании черенка образовывался зеленый каллус. Отсутствие ризогенеза, наличие каллуса серовато-белого цвета размером 5–9 мм наблюдали на среде № 10м (1/2 МС, 0,5 мг/л зеатина, 10 г/л сахарозы). Присутствие сахарозы в концентрации 30 г/л стимулировало каллусогенез, подавляло пролиферацию побегов и способствовало формированию чешуевидных листьев фиолетовой окраски.

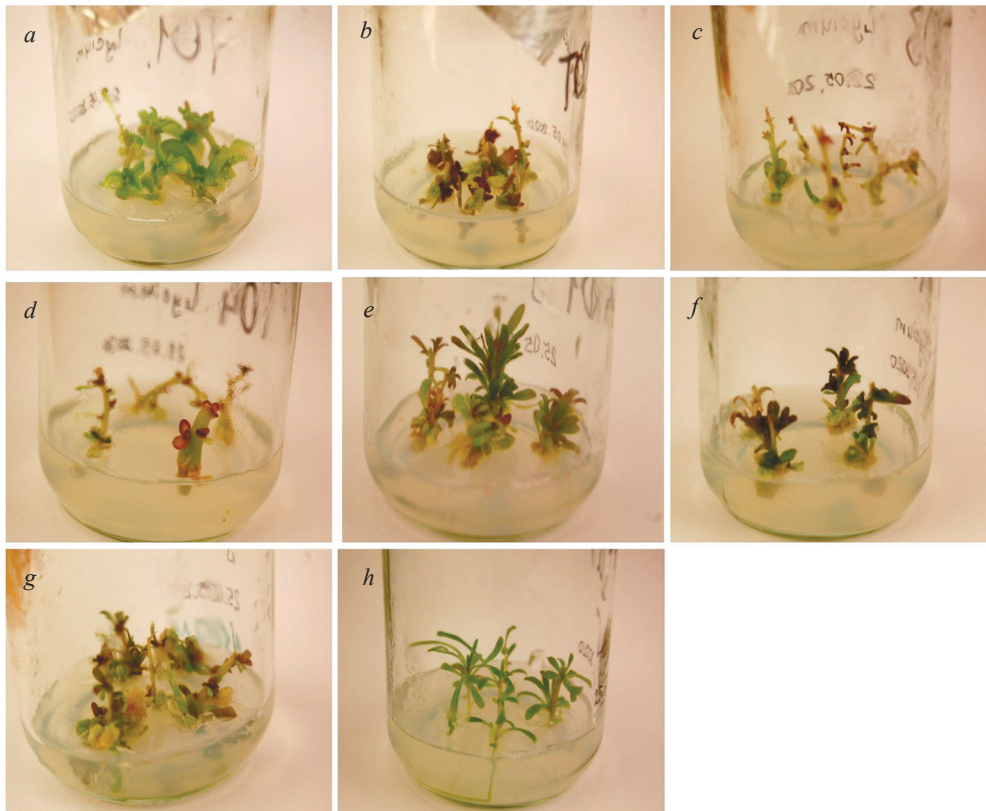


Рис. 7. Растения *L. ruthenicum* в культуральных сосудах
(варианты среды: a – T01, b – T02, c – T03, d – T04, e – R01, f – R02, g – № 10м, h – б/б)

Fig. 7. Plants of *L. ruthenicum* in culture vessels
(variants: a – T01, b – T02, c – T03, d – T04, e – R01, f – R02, g – no. 10m, h – b/b)

Оптимальной питательной средой для стабильного развития (без аномалий, без каллусообразования и инициации корнеобразования) является среда МС без содержания гормонов и сахарозы.

Дальнейшее поддержание образцов в коллекции *in vitro* осуществлялось на питательной среде МС с половинным количеством макросолей, без фитогормонов, при пониженной положительной температуре (4 °С), освещенности ~500 лк, фотопериоде 8 ч и периодическом клонировании микрорастений [17].

Заключение. В результате проведенных экспериментов выявлены особенности прорастания семян галофита дерезы русской (*Lucium ruthenicum* Murr.) в стерильных и нестерильных условиях. Оптимальным режимом температуры и освещенности для проращивания годичных семян данного вида является 16-часовой фотопериод и температура 25 °С, всхожесть семян в нестерильных условиях составила: у четырехгодичных – 46 %; у двухгодичных – 83; у одногодичных – 96 %. При использовании стерилизующих агентов для ввода семян как первичных эксплантов в культуру *in vitro* следует учитывать влияние стерилизующих агентов на зародыш семени.

Многоступенчатая стерилизация значительно снижает жизнеспособность семян и проростков *Lucium ruthenicum*, что ведет к снижению всхожести семян, но одновременно способствует устранению патогенов с семенной поверхности. Наиболее эффективным было сочетание таких агентов для стерилизации семян *Lucium ruthenicum*, как хозяйственное мыло, раствор фунгицида «Прозаро» и нитрат серебра (всхожесть составила 40 %).

Оптимальной питательной средой для стабильного развития микропобегов (без аномалий, без каллусообразования и инициации корнеобразования) оказалась МС без добавления гормонов и сахарозы. Поддержание образцов в коллекции *in vitro* осуществлялось на половинной МС

среде без гормонов и сахарозы, при пониженной положительной температуре (4 °C), освещенности ~500 лк и фотопериоде 8 ч.

Показано, что *in vitro* образцы коллекции *L. ruthenicum* могут быть использованы для разработки методов оздоровления микрорастений от вирусных инфекций; генотипирования образцов; морфо-биологического изучения *ex vitro* растений, устойчивых к соляному стрессу.

Список использованных источников

1. Николаева, М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М. Г. Николаева, М. В. Разумова, В. Н. Гладкова. – Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1985. – 348 с.
2. Фирсова, М. К. Методы определения качества семян / М. К. Фирсова. – изд. 2-е, переработ. и доп. – М. : Сельхозгиз, 1959. – 351 с.
3. Гранитова, О. Н. Влияние температуры и влажности на проращивание семян некоторых среднеазиатских растений / О. Н. Гранитова // Тр. Ин-та ботаники Акад. наук Узбек. ССР. – 1955. – № 3. – С. 63–101.
4. Сарабиева, Ш. У. Биологические особенности и ценопопуляционная характеристика *Astragalus centralis* E. Sheld. в условиях Юго-Западного Кызылкума : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / Ш. У. Сарабиева ; Акад. наук Респ. Узбекистан, Науч.-производ. центр «Ботаника». – Ташкент, 2009. – 21 с.
5. Флора СССР : в 30 т. / гл. ред. В. Л. Комаров. – Л. : Изд-во Акад. наук СССР, 1955. – Т. 22. – 861 с.
6. Флора Узбекистана : в 6 т. / гл. ред. Р. Р. Шредер. – Ташкент : Изд-во Узб. филиала Акад. наук СССР, 1961. – Т. 5. – 668 с.
7. Экологическая анатомия пустынных растений Средней Азии : в 3 т. / А. А. Бутник [и др.]. – Ташкент : Фан, 1991. – Т. 1 : Деревья, кустарники, кустарнички. – 145 с.
8. Деревья и кустарники СССР. – М.–Л. : изд-во Акад. наук СССР, 1962. – Т. VI. – С. 380.
9. Abdirahimova, S. Sh. *Lycium ruthenicum* Murr. dated in the Southern Aral and Aral Sea regions. The amount of chemical elements contained in the vegetative and generative organs of the plant / S. Sh. Abdirahimova, S. G. Sherimbetov // J. Crit. Rev. – 2020. – Vol. 7, N 9. – P. 153–156. <https://doi.org/10.31838/jcr.07.09.29>
10. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress (in Chinese) / Y. Liu [et al.] // Environ. Technol. – 2016. – Vol. 37, N 8. – P. 909–919. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1091512>
11. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. – 158 с.
12. Способ выращивания посадочного материала: пат. 2485755 РФ, МПК А 01 G 01/00 / А. И. Сиволапов, Т. Е. Галдина, Т. М. Табацкая, О. С. Машкина ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью «ИНВИТРО» ; заявил : 28.10.2011 ; опубл. 21.09.2011.
13. Bonner, F. T. Storage of seeds: potential and limitations for germplasm conservation / F. T. Bonner // Forest Ecol. Management. – Vol. 35, N 1–2. – P. 35–43. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90230-9](https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90230-9)
14. Тихонова, В. Л. Долговременное хранение семян дикорастущих растений в Главном Ботаническом саду РАН / В. Л. Тихонова, И. А. Смирнов // Репродуктивная биология редких и исчезающих видов растений : тез. докл. Всерос. науч. конф. (21–24 июня 1999 г., Сыктывкар) / редкол. : Ю. М. Фролов (отв. ред.) [и др.]. – Сыктывкар, 1999. – С. 56–57.
15. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
16. Орлова, С. Ю. Биологические особенности и селекционная ценность сортов вишни в условиях Северо-Запада России : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.01.05 / С. Ю. Орлова ; Всерос. науч.-исслед. ин-т растениеводства им. Н. И. Вавилова РАСХН. – СПб., 2002. – 20 с.
17. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях : метод. указания / сост. : С. Е. Дунаева [и др.] ; под ред. Т. А. Гавриленко. – СПб. : Гос. науч. учреждение Всерос. НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова Рос. акад. с.-х. наук, 2017. – 64 с.

References

1. Nikolaeva M. G., Razumova M. V., Gladkova V. N. *Reference book on dormant seed germination*. Leningrad, Nauka. Leningradskoe otdelenie Publ., 1985. 348 p. (in Russian).
2. Firsova M. K. *Methods for determining the quality of seeds*. 2nd ed. Moscow, Sel'khozgiz Publ., 1959. 351 p. (in Russian).
3. Granitova O. N. Influence of temperature and humidity on seed germination of some Central Asian plants. *Trudy Instituta botaniki Akademii nauk Uzbekskoi SSR* [Proceedings of the Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Uzbek SSR], 1955, no. 3, pp. 63–101 (in Russian).
4. Sarabieva Sh. U. *Bioecological features and cenopopulation characteristics of Astragalus centralis E. Sheld. in the conditions of Southwest Kyzyl Kum*. Abstract of Ph. D. diss. Tashkent, 2009. 21 p. (in Russian).
5. *Flora URSS (Flora Unions Rerumpublicarum Sovieticarum Socialisticarum)*. Vol. 22. Leningrad, USSR Academy of Sciences Publishing House, 1955. 861 p. (in Russian).

6. *Flora of Uzbekistan. Vol. 5.* Tashkent, Publishing house of the Uzbek branch of the USSR Academy of Sciences, 1961. 668 p. (in Russian).
7. Butnik A. A., Nigmanova R. N., Paizieva S. A., Saidov D. K. *Ecological anatomy of the desert plants of Central Asia. Vol. 1. Trees, shrubs, shrubs.* Tashkent, Fan Publ., 1991. 145 p. (in Russian).
8. *Trees and bushes of the USSR.* Moscow – Leningrad, 1962, vol. VI, p. 380. (in Russian).
9. Abdirahimova S. Sh., Sherimbetov S. G. *Lycium ruthenicum* Murr. dated in the Southern Aral and Aral Sea regions. The amount of chemical elements contained in the vegetative and generative organs of the plant. *Journal of Critical Reviews*, 2020, vol. 7, no. 9, pp. 153–156. <https://doi.org/10.31838/jcr.07.09.29>
10. Liu Y., Hou L. Y., Li Q. M., Jiang Z. P., Liu D., Zhu Y. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress (in Chinese). *Environmental Technology*, 2016, vol. 37, no. 8, pp. 909–919. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1091512>
11. Butenko R. G. *Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology on their basis.* Moscow, FBK-PRESS Publ., 1999. 158 p. (in Russian).
12. Sivolapov A. I., Galdina T. E., Tabatskaya T. M., Mashkina O. S. *Method of growing planting material.* Patent USSR No. 2485755, 2011. (in Russian).
13. Bonner F. T. Storage of seeds: potential and limitations for germplasm conservation. *Forest Ecology and Management*, 1990, vol. 35, no. 1–2, pp. 35–43. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90230-9](https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90230-9)
14. Tikhonova V. L., Smirnov I. A. Long-term storage of seeds of wild plants in the Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences. *Reproduktivnaya biologiya redkikh ischezayushchikh vidov rastenii: tezisy dokladov Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii (21–24 iyunya 1999 goda, Syktyvkar)* [Reproductive biology of rare endangered plant species: abstracts of the All-Russian scientific conference (June 21–24, 1999, Syktyvkar)]. Syktyvkar, 1999, pp. 56–57 (in Russian).
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 1962, vol. 15, no. 3, pp. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
16. Orlova S. Yu. *Biological characteristics and breeding value of cherry varieties in the North-West of Russia:* Abstract of Ph. D. diss. St. Petersburg, 2002. 20 p. (in Russian).
17. Dunaeva S. E., Pendinen G. I., Antonova O. Yu., Shvachko N. A., Volkova N. N., Gavrilenko T. A. *Preservation of vegetatively propagated cultures in in vitro and cryo collections.* St. Petersburg, State Scientific Institution All-Russian Research Institute of Plant Industry named after N. I. Vavilov of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 2017. 64 p. (in Russian).

Информация об авторах

Седун Екатерина Анатольевна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: krvvj.mhr@rambler.ru

Абдирahимова Сайёра Шодиёровна – базовый докторант. Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека (ул. Университетская, 4, 100174, г. Ташкент, Республика Узбекистан). E-mail: s.abdirahimova@mail.ru

Зубарев Андрей Васильевич – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: av.zubarev01@gmail.com

Спиродович Елена Владимировна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.spirydovich@gmail.com

Решетников Владимир Николаевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Шеримбетов Санжар Гулмирзоевич – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии им. акад. А. С. Садыкова АН РУз (ул. М. Улугбека, 83, 100125, г. Ташкент, Республика Узбекистан). E-mail: sanjarbeksherimbetov@gmail.com

Назирова Эльмира Рахимбердиевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии им. акад. А. С. Садыкова АН РУз (ул. М. Улугбека, 83, 100125, г. Ташкент, Республика Узбекистан). E-mail: info@biochem.uz

Information about the authors

Ekaterina A. Sedun – Junior Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: krvvj.mhr@rambler.ru

Sayyora Sh. Abdirahimova – Basic Doctoral Student. National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek (4, Universitetskaya Str., 100174, Tashkent, Republic of Uzbekistan). E-mail: s.abdirahimova@mail.ru

Andrey V. Zubarev – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: av.zubarev01@gmail.com

Elena V. Spiridovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.spirydovich@gmail.com

Vladimir N. Reshetnikov – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Sanjar G. Sherimbetov – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry named after Acad. A. S. Sadykov of the Academy of Sciences of Uzbekistan (83, Mirzo Ulugbek Str., 100125, Tashkent, Uzbekistan). E-mail: sanjarbeksherimbetov@gmail.com

Elmira R. Nazirova – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry named after Acad. A. S. Sadykov of the Academy of Sciences of Uzbekistan (83, Mirzo Ulugbek Str., 100125, Tashkent, Uzbekistan). E-mail: info@biochem.uz

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

УДК 581.143:577.175.1.05

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-186-193>

Поступила в редакцию 24.09.2020

Received 24.09.2020

К. Р. Кем¹, Н. А. Ламан¹, Н. А. Копылова¹, В. А. Хрипач²

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

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ФИТОГОРМОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ БРАССИНОСТЕРОИДОВ ЛАКТОННОЙ СТРУКТУРЫ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОГО СТРЕССА У РАСТЕНИЙ

Аннотация. Исследована зависимость «доза–эффект» в действии brassinosteroidов (БС) лактонной структуры на корневую систему и надземную часть проростков льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) и ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в условиях химического стресса. Установлена видовая специфичность ростовых реакций на обработку семян смесями БС и глифосата в ингибирующей дозе. Определены диапазоны концентраций, в которых фитогормональная активность БС выражена максимально. При этом отмечается усиление (на проростках ярового ячменя) либо ослабление (на проростках льна-долгунца) ингибирующего эффекта глифосата на корневую систему.

Ключевые слова: глифосат, N-фосфометилглицин, brassinosteroidы, эпибрасинолид, брасинолид, гомобрасинолид, инкрустация, доза–эффект, ростовая реакция

Для цитирования: Фитогормональная активность brassinosteroidов лактонной структуры в условиях химического стресса у растений / К. Р. Кем [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 186–193. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-186-193>

Karina R. Kem¹, Nikolai A. Laman¹, Natalia A. Kopylova¹, Vladimir A. Khripach²

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

²Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

PHYTOHORMONAL ACTIVITY OF LACTONE-STRUCTURE BRASSINOSTEROIDS UNDER CHEMICAL STRESS IN PLANTS

Abstract. The dependence of the action of lactone-structure brassinosteroids in composition with a growth-inhibiting dose of glyphosate on the root system and the aerial part of fiber flax (*Linum usitatissimum* L.) and spring barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings was determined. The species specificity of growth responses to seed incrustation by such mixtures was identified. The concentration ranges of brassinosteroids, in which their interaction with the herbicide is most pronounced, were detected. In this case, there is an increase (on spring barley seedlings) or weakening (on fiber flax seedlings) of the inhibitory effect of glyphosate on the root system.

Keywords: glyphosate, N-phosphonomethylglycine, brassinosteroids, epibrassinolide, brassinolide, homobrassinolide, incrustation, dose-effect, growth-response

For citation: Kem K. R., Laman N. A., Kopylova N. A., Khripach V. A. Phytohormonal activity of lactone-structure brassinosteroids under chemical stress in plants. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 186–193 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-186-193>

Введение. В настоящее время наиболее востребованными и перспективными направлениями являются разработка и внедрение в производство экобезопасных и высокоэффективных росторегуляторов с целью повышения продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных культур. Высоким потенциалом для стимуляции роста и продуктивности растений обладают природные и синтетические фитогормоны класса brassinosteroidов (БС). Содержание БС в растениях составляет менее 10⁻⁵ % [1], однако они присутствуют во всех органах высших и низших растений, особенно в пыльце. Широко известными представителями класса БС являются брасинолид (БЛ), впервые выделенный в 1979 г. из пыльцы рапса (*Brassica napus* L.) [2], гомобрасинолид (ГБЛ) и эпибрасинолид (ЭБЛ).

Основными функциями БС в растениях являются стимуляция клеточного роста и прорастания семян, регуляция дифференцировки тканей проводящей системы, экспрессия фотосинтетических генов [3, 4]. Достоверно известно, что БС стимулируют экспрессию генов синтеза ферментов ксиланглюкан-эндотрансглюкозилаз, индуцирующих перестройку полисахаридных полимеров клеточных стенок. Этот процесс приводит к их временному разуплотнению, что в свою очередь способствует росту и растяжению клеток [5]. Благодаря своей выраженной иммуностимулирующей и адаптогенной активности БС находят применение и в растениеводстве [6–9].

Однако, несмотря на очевидные успехи в применении БС в сельскохозяйственном производстве, на сегодняшний день в Беларуси зарегистрировано только два БС-препарата: на основе фитогормонов ЭБЛ (Эпин) и ГБЛ (Эпин Плюс). Их ограниченное применение обусловлено рядом факторов, в том числе необходимостью изучения зависимости «доза–эффект» при обработке фитогормонами в широком диапазоне концентраций, гормональной активностью природных и синтетических БС различной структуры, содержанием в растениях эндогенных и экзогенных биологически активных веществ – потенциальных синергистов и антагонистов БС.

Известно, что наиболее выраженную активность БС проявляют в неблагоприятных условиях, мобилизуя иммунную и стресс-протекторную системы организма. Для исследования действия БС в широком диапазоне концентраций нами был выбран химический стресс, вызываемый глифосатом – ингибитором фермента EPSPS шикиматного пути биосинтеза ароматических соединений у растений.

Цель исследования – определение диапазонов концентраций, в которых различные брассиностероиды лактонной структуры (брассинолид, эпибрассинолид и гомобрассинолид) проявляют максимальную фитогормональную активность.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования были семена и проростки ярового ячменя (сорт Радзимич) и льна-долгунца (сорт Грант).

Результаты предыдущих исследований показали, что наиболее удобной концентрацией N-фосфонометилглицина для определения влияния совместного воздействия глифосата и широкого диапазона концентраций БС является та, при которой ингибирование роста корневой системы проростков относительно контроля составляет около 40–60 % [10]. В этом случае предполагаемые эффекты воздействия компонентов смеси на ростовые реакции (как положительные, так и отрицательные) наиболее выражены. Таким образом, в опытах была использована ингибирующая концентрация глифосата $5,5 \cdot 10^{-2}$ М в смеси с каждым из БС в диапазоне от 10^{-4} до 10^{-10} М в 1 %-ном растворе пленкообразователя Гисинар. Растворы готовили методом разбавления исходного спиртового раствора в концентрации 10^{-4} М, пошагово снижая концентрацию в 1,25 раза. Семена инкрустировали в стеклянной посуде с расходом рабочего раствора 20 мкл на 1 г семян. Используемые в работе природные БС были получены в лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Каждый эксперимент, помимо контрольных (в четырехкратной повторности), включал 40 опытных вариантов (в двукратной повторности). В качестве контролей выступали: вариант, при котором обработка производилась 1 %-ным раствором пленкообразователя Гисинар (контроль-1), и вариант, при котором обработка производилась глифосатом в дозе $5,5 \cdot 10^{-2}$ М без добавления БС (контроль-2). Проращивание семян производили методом рулонной культуры [11, 12], используя стеклянные емкости объемом 1 л. В течение 2 сут после посева рулоны выдерживали в термостате при температуре 22–24 °С, на 3-и сутки перемещали в условия искусственного освещения интенсивностью 7,5 тыс. лк с режимом 14 ч – свет, 10 ч – темнота.

Измерения длины корня и надземной части производили на 7-е и 9-е сутки. Для определения биометрических показателей брали по 15 проростков из каждого варианта и по 30 проростков из контролей. Для статистической обработки использовали стандартный пакет программ Microsoft Excel. В работе и на гистограммах указаны средние значения и величины стандартной ошибки средней арифметической, по которым наглядно видны отличия между вариантами опытов.

Определение накопления шикимовой кислоты (ШК) в тканях проростков ячменя осуществляли методом ВЭЖХ на хроматографе UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Германия) с диодно-матричным детектором DAD-3000RS и колонкой Nucleodur C18 Gravity 4,6×250 мм (размер частиц 5 мкм).

Результаты и их обсуждение. Проведенные ранее эксперименты по исследованию действия БС (без добавления глифосата) при инкрустации семян в широком диапазоне концентраций на рост проростков растений показали, что в условиях 9-дневного лабораторного опыта не выявлено влияния БС на рост корневой системы и надземной части проростков и других регистрируемых эффектов [13]. При этом ростовая реакция надземной части проростков обеих культур оказалась значительно менее чувствительной к ингибирующему действию глифосата при инкрустации семян, чем корневая система.

Анализ данных, полученных в результате исследований влияния БС на рост проростков в условиях химического стресса, показал, что для проростков льна-долгунца во всех вариантах опытов также были характерны незначительные колебания показателей длины надземной части (на 9-е сутки). При обработке смесями ингибирующей дозы глифосата с БЛ различия по данному параметру составляли от 97,2 до 103,1 % по отношению к контролю-2; с ГБЛ – от 96,9 до 103,3; с ЭБЛ – от 98,2 до 104,2 % (различия статистически недостоверны).

Влияние БС в смесях с глифосатом на длину надземной части проростков ярового ячменя было более выраженным. Обнаружены диапазоны концентраций БС, в которых между ними и глифосатом наблюдался эффект синергизма, проявляющийся в усилении ингибирующего действия гербицида. Однако наиболее четко это взаимодействие было заметно по реакции корневой системы проростков данной культуры на инкрустацию семян смесями глифосата и БС (рис. 1–3).

Так, диапазоны концентраций БС, достоверно усиливающих гербицидный эффект N-фосфометилглицина на рост корневой системы проростков ярового ячменя, составляли: для БЛ – от $3,3 \cdot 10^{-8}$ до $3,4 \cdot 10^{-7}$ М, для ГБЛ – от $1,0 \cdot 10^{-9}$ до $1,5 \cdot 10^{-8}$, для ЭБЛ – от $4,7 \cdot 10^{-8}$ до $2,8 \cdot 10^{-7}$ М. Выявлено, что данные диапазоны у БЛ и ЭБЛ практически совпадают по концентрациям, тогда как диапазон, при котором выявлено взаимодействие между ГБЛ и глифосатом, значительно сдвинут в область меньших концентраций фитогормона. Также отмечено, что из трех изученных БС наиболее широкий диапазон «активных» концентраций имеет ГБЛ.

Об эффекте синергизма между БС (ЭБЛ) и глифосатом также свидетельствуют результаты эксперимента по определению накопления шикиматов в корнях и надземной части проростков ячменя, проведенного методом ВЭЖХ. Известно, что глифосат блокирует активность одного из ферментов шикиматного пути биосинтеза ароматических соединений, который осуществляет стадию превращения шикимата в хоризмат. Таким образом, было сделано предположение о возможном накоплении ШК и ее производных в тканях проростков, полученных из семян, которые были инкрустированы чистым глифосатом и смесями глифосата с БС.

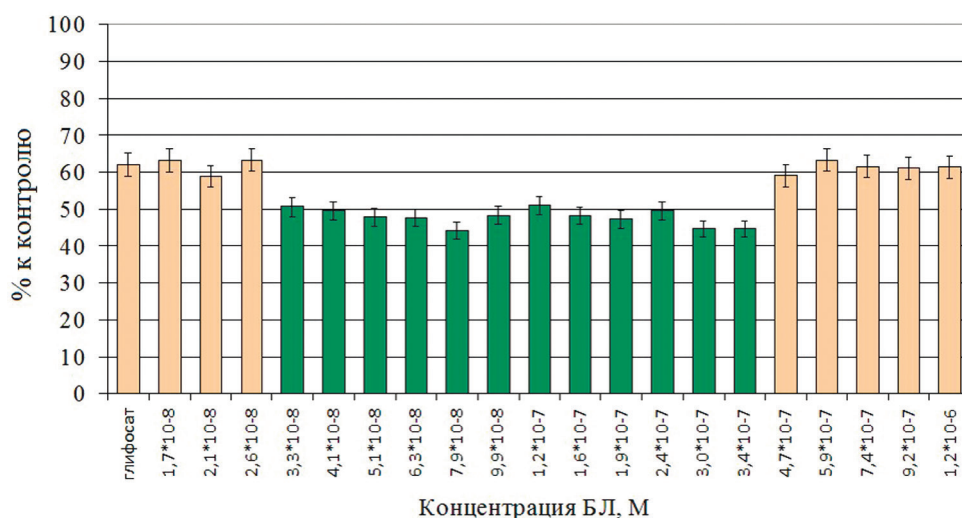


Рис. 1. Диапазон концентраций брассинолида, усиливающих ингибирующий эффект N-фосфометилглицина на корневую систему проростков ячменя

Fig. 1. Brassinolide concentration range in which an increase in the inhibitory effect of N-phosphonomethyl glycine on the root system of barley seedlings is observed

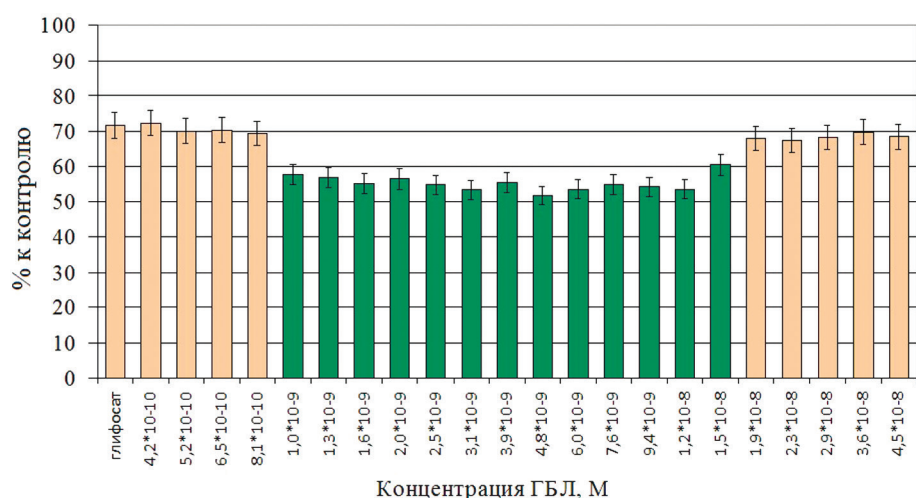


Рис. 2. Диапазон концентраций гомобрассинолида, усиливающих ингибирующий эффект N-фосфометилглицина на корневую систему проростков ячменя

Fig. 2. Homobrassinolide concentration range in which an increase in the inhibitory effect of N-phosphonomethyl glycine on the root system of barley seedlings is observed

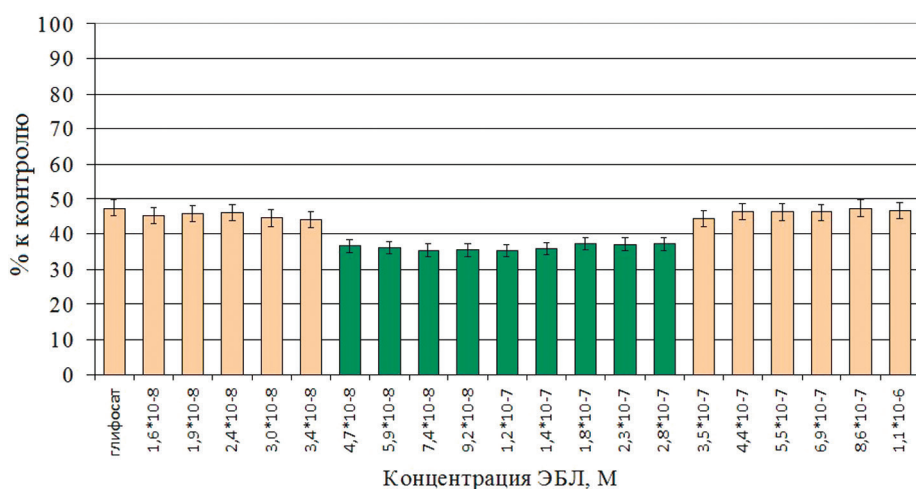


Рис. 3. Диапазон концентраций эпибрассинолида, усиливающих ингибирующий эффект N-фосфометилглицина на корневую систему проростков ячменя

Fig. 3. Epibrassinolide concentration range in which an increase in the inhibitory effect of N-phosphonomethyl glycine on the root system of barley seedlings is observed

В рамках данного опыта отдельно проращивали семена, инкрустированные 1 %-ным раствором Гисинара (контроль), глифосатом в ингибирующей концентрации ($5,5 \cdot 10^{-2}$ М) и смесью глифосата ($5,5 \cdot 10^{-2}$ М) с ЭБЛ ($1,2 \cdot 10^{-7}$ М). Концентрация ЭБЛ была выбрана как средняя из диапазона, при котором ранее было выявлено усиление ингибирования роста корней проростков ячменя при инкрустации семян смесями глифосата и ЭБЛ.

Изменение площади пиков, соответствующих ШК при различных вариантах обработки, представлено на хроматограммах (рис. 4).

Определенные методом ВЭЖХ показатели содержания ШК свидетельствуют о многократном увеличении количества шикиматов в надземной части проростков при обработке семян смесью глифосата и ЭБЛ. Так, содержание ШК в контрольном варианте составило 11,38 мкг/г сырой массы; в варианте с обработкой глифосатом – 15,97; в варианте с обработкой смесью глифосат + ЭБЛ – 185,21 мкг/г (увеличение в 16,3 раза по сравнению с контрольным вариантом и в 11,6 раза по сравнению с чистым глифосатом).

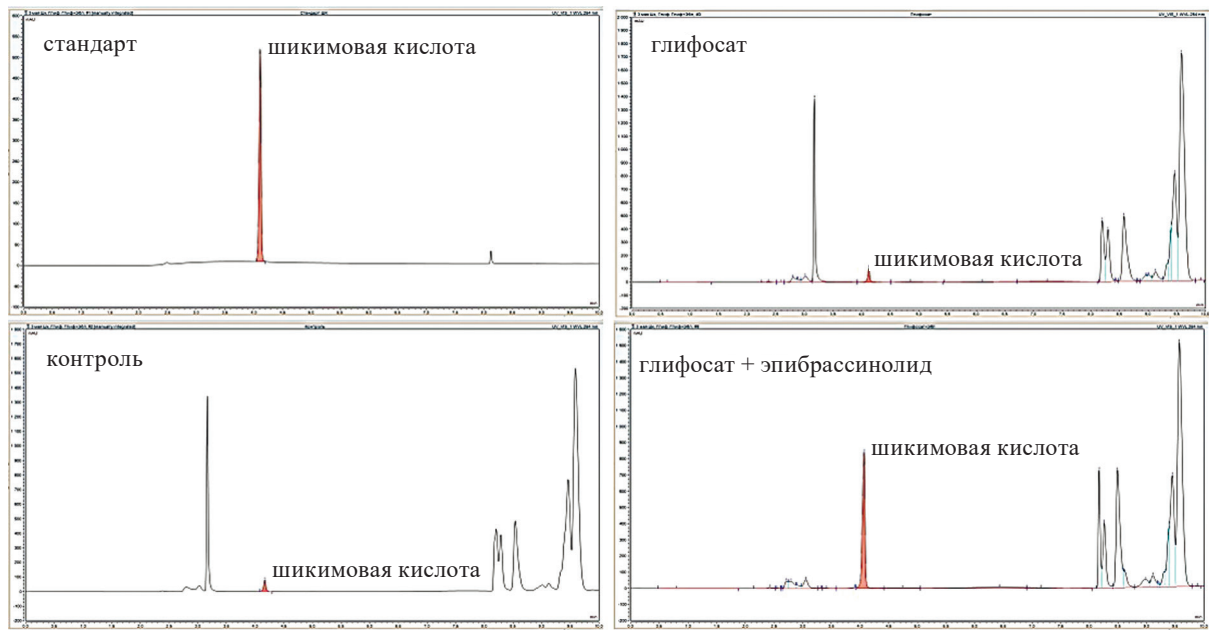


Рис. 4. Влияние обработки семян глифосатом и его смесью с эпибрассинолидом на содержание шикимовой кислоты в листьях проростков ярового ячменя

Fig. 4. Effect of seed treatment with glyphosate and its mixture with epibrassinolide on the content of shikimic acid in the leaves of spring barley seedlings

В отличие от результатов опытов на яровом ячмене, в экспериментах со льном-долгунцом были выявлены диапазоны концентраций каждого из БС, при которых ослабляется гербицидный эффект глифосата на рост корневой системы проростков (рис. 5–7).

Диапазоны концентраций БС, статистически достоверно снижающих гербицидный эффект глифосата на рост корневой системы проростков льна-долгунца, составляли: для БЛ – от $5,1 \cdot 10^{-8}$ до $3,4 \cdot 10^{-7}$ М, для ГБЛ – от $6,5 \cdot 10^{-10}$ до $7,6 \cdot 10^{-9}$, для ЭБЛ – от $8,5 \cdot 10^{-8}$ до $8,0 \cdot 10^{-7}$ М. Установлено, что, так же как и при исследовании действия БС на проростках ярового ячменя активность ГБЛ проявляется при более низких концентрациях, чем у БЛ и ЭБЛ.

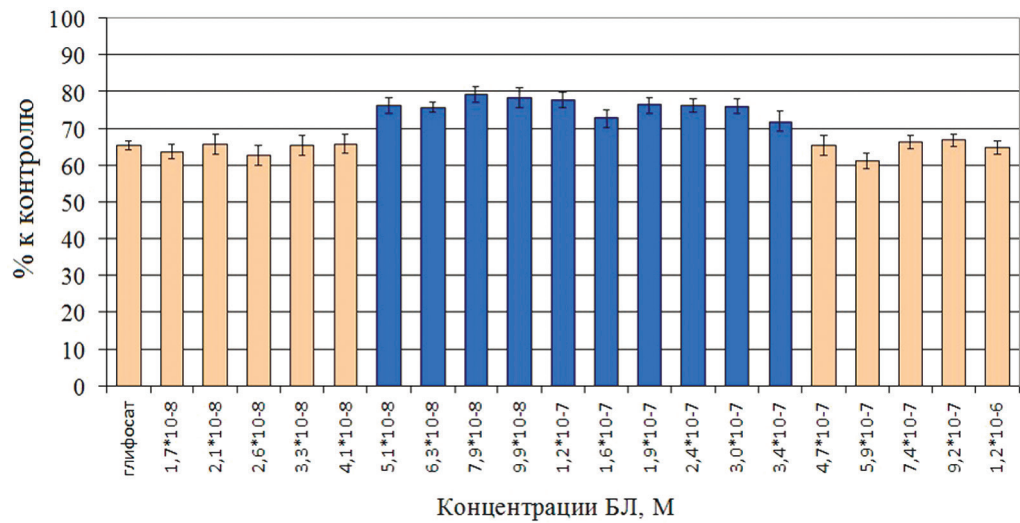


Рис. 5. Диапазон концентраций брассинолида, снижающих ингибирующий эффект N-фосфонометилглицина на корневую систему проростков льна-долгунца

Fig. 5. Brassinolide concentration range in which a decrease in the inhibitory effect of N-phosphonomethyl glycine on the root system of fiber flax seedlings is observed

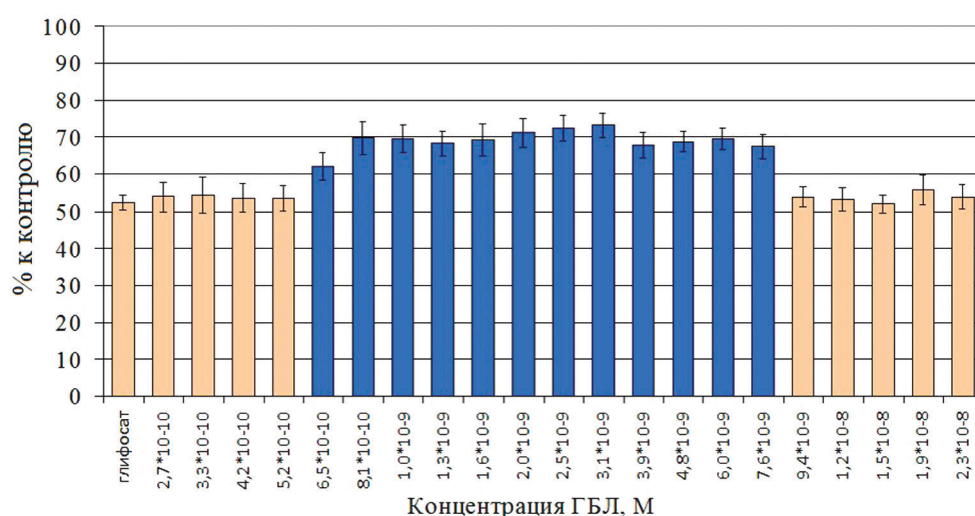


Рис. 6. Диапазон концентраций гомобрассинолида, снижающих ингибирующий эффект N-фосфонометилглицина на корневую систему проростков льна-долгунца

Fig. 6. Homobrassinolide concentration range in which a decrease in the inhibitory effect of N-phosphonomethyl glycine on the root system of fiber flax seedlings is observed

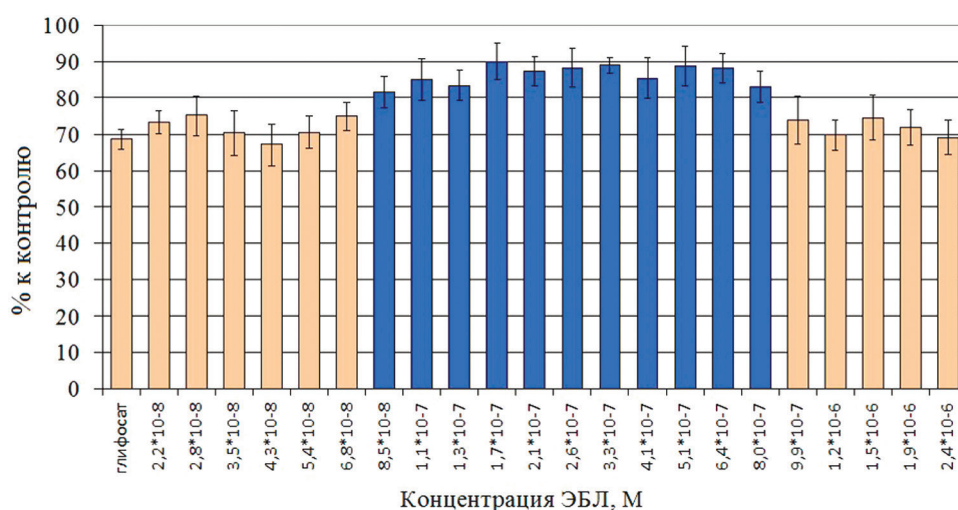


Рис. 7. Диапазон концентраций эпибрассинолида, снижающих ингибирующий эффект N-фосфонометилглицина на корневую систему проростков льна-долгунца

Fig. 7. Epibrassinolide concentration range in which a decrease in the inhibitory effect of N-phosphonomethyl glycine on the root system of fiber flax seedlings is observed

Заклучение. Впервые установлено, что влияние различных брассиностероидов на рост корневой системы растений в условиях гербицидного стресса имеет ярко выраженные общие черты, а направленность и величина эффекта зависят от их дозы и вида растений. Открытие данного феномена создает предпосылки для повышения эффективности исследований как фитогормональных компонентов в отдельности, так и в сочетании с другими биологически активными агентами при разработке агропрепаратов нового типа на основе композиций стероидных гормонов растений и гербицидов.

Список использованных источников

1. Khripach, V. A. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, E. de Groot // Ann. Botany. – 2000. – Vol. 86, N 3. – P. 441–447. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1227>

2. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from brassica napus pollen / M. D. Grove [et al.] // *Nature*. – 1979. – Vol. 281, N 5728. – P. 216–217. <https://doi.org/10.1038/281216a0>
3. Saito, M. BES1 and BZR1 redundantly promote phloem and xylem differentiation / M. Saito, Y. Kondo, H. Fukuda // *Plant Cell Physiol.* – 2018. – Vol. 59, N 3. – P. 590–600. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy012>
4. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves / M. V. Efimova [et al.] // *Steroids*. – 2017. – Vol. 120. – P. 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.12.004>
5. Khripach, V. A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. E. Groot. – San Diego : Academic press, 1999. – 456 p.
6. Стимуляция роста и развития растений *Rhododendron japonicum* L. *in vivo* при использовании брассиностероидов / О. А. Кудряшова [и др.] // *Вестн. Полеск. дзярж. ун-та. Сер. прыродазнаўч. навук.* – 2011. – № 1. – С. 14–21.
7. Индуцированный брассиностероидами прайминг растений картофеля снижает окислительный стресс и повышает солеустойчивость / М. В. Ефимова [и др.] // *Докл. Акад. наук.* – М., 2018. – Т. 478, № 6. – С. 723–726.
8. 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt stress tolerance in plants : a review / M. Tanyeer [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 2018. – Vol. 130. – P. 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.035>
9. Effect of 24-epibrassinolide on brassica napus alternative respiratory pathway, guard cells movements and phospholipid signaling under salt stress / M. Derevyanchuk [et al.] // *Steroids*. – 2017. – Vol. 117. – P. 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.11.006>
10. Ламан, Н. А. Ростовые реакции проростков отдельных видов и сортов сельскохозяйственных растений на обработку семян глифосатом (N-фосфометилглицином) / Н. А. Ламан, К. Р. Кем, А. Ф. Судник // *Вестн. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2016. – № 4. – С. 7–13.
11. Ламан, Н. А. Проращивание мелких, плоских и долго прорастающих семян рулонным методом с использованием синтетической вентиляционной сетки / Н. А. Ламан, С. И. Будай, О. Э. Барнарович // *Изв. Акад. аграр. наук Респ. Беларусь.* – 2000. – № 4. – С. 57–61.
12. Судник, А. Ф. Методика проращивания семян льна-долгунца и рапса и создания низкотемпературного стресса для проростков / А. Ф. Судник, Н. А. Ламан, Л. Б. Куканего // *Регуляция роста, развития и продуктивности растений : материалы VII Междунар. науч. конф., Минск, 26–28 окт. 2011 г.* – Минск, 2011. – С. 198.
13. Влияние эпибрасинолида в широком диапазоне концентраций на рост проростков растений / Н. А. Ламан [и др.] // *Регуляция роста, развития и продуктивности растений : материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 28–30 окт. 2015 г.* – Минск, 2015. – С. 68.

References

1. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot E. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals of Botany*, 2000, vol. 86, no. 3, pp. 441–447. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1227>
2. Grove M. D., Spencer G. F., Rohwedder W. K., Mandava N., Worley J. F., Warthen J. D., Steffens G. L., Flippen-Anderson J. L., Cook J. C. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from brassica napus pollen. *Nature*, 1979, vol. 281, no. 5728, pp. 216–217. <https://doi.org/10.1038/281216a0>
3. Saito M., Kondo Y., Fukuda H. BES1 and BZR1 redundantly promote phloem and xylem differentiation. *Plant Cell Physiology*, 2018, vol. 59, no. 3, pp. 590–600. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy012>
4. Efimova M. V., Yankova R., Kusnetsov V. V., Litvinovskaya R. P., Zlobin I. E., Dobrev P. [et al.]. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves. *Steroids*, 2017, vol. 120, pp. 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.12.004>
5. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot A. E. *Brassinosteroids. A new class of plant hormones*. San Diego, Academic press, 1999. 456 p.
6. Kudryashova O. A., Volotovich A. A., Gerasimovich T. V., Vodchits M. P., Khripach V. A. Stimulation of plant growth and development of *Rhododendron japonicum* L. *in vivo* using brassinosteroids. *Vesnik Paleskaga dzyarzhnaga universiteta. Seryya pryrodaznauchnykh navuk* [Bulletin of Polesie State University. Series of natural sciences], 2011, no. 1, pp. 14–21 (in Russian).
7. Efimova M. V., Khripach V. A., Boiko E. V., Malofii M. K., Kolomeichuk L. V., Murgan O. K., Vidershpan A. N., Mukhamatdinova E. A., Kuznetsov V. V. Brassinosteroid-induced priming of potato plants reduces oxidative stress and increases salt tolerance. *Doklady Akademii nauk* [Reports of the Academy of Sciences]. Moscow, 2018, vol. 478, no. 6, pp. 723–726 (in Russian).
8. Tanveer M., Shahzad B., Sharma A., Biju S., Bhardwaj R. 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt stress tolerance in plants : a review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, vol. 130, pp. 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.035>
9. Derevyanchuk M., Kretynin S., Iakovenko O., Litvinovskaya R., Zhabinskii V., Martinec J., Blume Y., Khripach V., Kravets V. Effect of 24-epibrassinolide on brassica napus alternative respiratory pathway, guard cells movements and phospholipid signaling under salt stress. *Steroids*, 2017, vol. 117, pp. 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.11.006>
10. Laman N. A., Kem K. R., Sudnik A. F. Growth reactions of seedlings of certain species and varieties of agricultural plants to seed treatment with glyphosate (N-phosphonomethylglycine). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 4, pp. 7–13 (in Russian).

11. Laman N. A., Buday S. I., Barnatovich O. E. Germination of small, flat and long-germinating seeds by the roll culture method using a synthetic ventilation mesh. *Izvestiya Akademii agrarnykh nauk Respubliki Belarus'* [Proceedings of the Academy of Agrarian Sciences of Belarus], 2000, no. 4, pp. 57–61 (in Russian).

12. Sudnik A. F., Laman N. A., Kukanego L. B. Method for germinating fiber flax and rape seeds and creating low-temperature stress for seedlings. *Regulyatsiya rosta, razvitiya i produktivnosti rastenii: materialy VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Minsk, 26–28 oktyabrya 2011 goda)* [Regulation of plant growth, development and productivity: materials of the VII International scientific conference (Minsk, October 26–28, 2011)]. Minsk, 2011, p. 198 (in Russian).

13. Laman N. A., Kem K. R., Khripach V. A., Sudnik A. F. Effect of epibrassinolide in a wide range of concentrations on the growth of plant seedlings. *Regulyatsiya rosta, razvitiya i produktivnosti rastenii: materialy VIII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 28–30 oktyabrya 2015 goda)* [Regulation of plant growth, development and productivity: materials of the VIII International scientific and practical conference (Minsk, October 28–30, 2015)]. Minsk, 2015, p. 68 (in Russian).

Информация об авторах

Кем Карина Робертовна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kem-666@mail.ru

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

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

Хрипач Владимир Александрович – академик, д-р хим. наук, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Академика Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: khripach@iboch.by

Information about the authors

Karina R. Kem – 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: kem-666@mail.ru

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

Natalia A. Kopylova – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natal.kopylova.68@mail.ru

Vladimir A. Khripach – Academician, D. Sc. (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: khripach@iboch.by

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

УДК 574.587

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-194-204>

Поступила в редакцию 21.09.2020

Received 21.09.2020

И. И. Лапука, В. В. Вежновец

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

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ЗООБЕНТОСА ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ ЛУКОМЛЬСКОЙ ГРЭС

Аннотация. Изучен видовой состав зообентоса в подогреваемой и неподогреваемой зонах водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС. Зарегистрировано 80 таксонов донных животных, указано два новых вида личинок хирономид. В составе донной фауны зарегистрированы сохранившийся в условиях подогрева охраняемый реликтовый вид бокоплав Палласа *Pallaseopsis qudrispinosa*, занесенный в Красную книгу Беларуси, и вселенный чужеродный вид – пресноводная креветка *Macrobrachium nipponense*.

Высокое таксономическое разнообразие свидетельствует о незначительном воздействии работы ГРЭС на донное сообщество на всей акватории озера. Однако видовое богатство снижается локально в 2 раза в зоне сброса подогретых вод, особенно в летнее время. Под влиянием подогрева меняются таксономическая структура и пространственное распределение зообентоса на разных глубинах.

Ключевые слова: зообентос, видовой состав, подогреваемая зона, неподогреваемая зона

Для цитирования: Лапука, И. И. Таксономическая структура зообентоса водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС / И. И. Лапука, В. В. Вежновец // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 194–204. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-194-204>

Ilya I. Lapuka, Vasili V. Vezhnavecs

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

TAXONOMIC STRUCTURE OF THE ZOOBENTHOS OF THE LUKOML GRES COOLING RESERVOIR

Abstract. The species composition of zoobenthos in the heated and non-heated zones of the cooling lake Lukoml State District Power Station was studied. 80 taxa of bottom animals have been registered, and two new species of chironomid larvae have been identified. The bottom fauna includes a protected relict species of *Pallaseopsis qudrispinosa*, which is preserved in the conditions of warming, it is listed in the Red book of Belarus and the alien species – freshwater shrimp *Macrobrachium nipponense*. The high taxonomic diversity indicates that the Lukoml State District Power Station operation has little impact on the bottom community throughout the lake's water area. However, species richness is reduced locally by half in the zone of influence of heated water discharge, especially in summer. Under the influence of heating, the taxonomic structure and spatial distribution at different depths change.

Keywords: zoobenthos, species composition, heated zone, non-heated zone

For citation: Lapuka I. I., Vezhnavecs V. V. Taxonomic structure of the zoobenthos of the Lukoml GRES cooling reservoir. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 194–204 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-194-204>

Введение. Состав зообентоса наиболее полно изучен в оз. Лукомльское. Исследования там проводились начиная с 1932 г. [1], были продолжены перед пуском электростанции и регулярно продолжаются с 1969 г., когда озеро начало использоваться как водоем-охладитель ГРЭС [2]. В работе [2] приведены данные о многолетней динамике зообентоса в оз. Лукомльское, формировании зообентоса на разных грунтах, последствиях вселения чужеродных видов моллюсков – дрейссены и литоглифа, но без акцента на прямое влияние подогрева на таксономический состав. Здесь же упоминается депонированная работа А. Ю. Каратаева [3], в которой также идет речь о многолетних изменениях в экосистеме до и после пуска тепловой станции и о роли дрейссены в экосистеме озера.

В связи со сбросом подогретых вод в водоеме создается горизонтальный градиент температуры, что, учитывая разницу в термопреферендуме разных видов и групп животных, должно

влиять на распределение донных животных по акватории и создавать характерные для разных участков группы донных животных.

Цель работы – установить различия в видовом составе зообентоса подогреваемой и неподогреваемой зон оз. Лукомское и оценить влияние сброса теплых вод на таксономическую структуру зообентоса.

Материалы и методы исследования. Оз. Лукомское находится в бассейне р. Улла в Чашницком районе (18 км на юг от г. Чашники, около западной окраины г. Новолукомль). Площадь озера 36,7 км², длина 10,4 м, максимальная ширина 6,5 км, наибольшая глубина 11,5 м. Ложе осложнено многочисленными мелями. Дно до глубины 5–6 м выстлано песчаными отложениями, ниже – сапропелем. После сброса со станции температура воды становится на 8–12 °С выше, чем в озере, что оказывает значительное влияние на ход природных процессов в водоеме [4].

Пробы зообентоса были отобраны 11 июня и 25 сентября 2019 г. на 5 станциях разной глубины (0,5; 1,5; 3,0; 6,0 и 8,0 м) в подогреваемой и неподогреваемой зонах (рис. 1). В литоральной зоне отбор проб производили гидробиологическим сачком, на остальных глубинах – дночерпателем Боруцкого с площадью захвата 0,0225 м². Промывку грунта осуществляли в сачке с сеткой из мягкого материала (диаметр ячеек 300 мк).

При разборе проб и измерении животных использовали бинокулярный микроскоп МБС-10 с 56-кратным увеличением. Детали морфологии уточняли с помощью микроскопа Jenaval. Для идентификации животных использовали «Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР: (Планктон и бентос)», «Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Том 4» и «Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Том 2» [5–10].

Измерение температуры и кислорода в толще воды осуществляли с помощью термооксиметра Hanna HI 9143. Прозрачность воды определяли по белому диску Секки.

Для статистической обработки всех полученных фаунистических результатов и построения графиков использовали пакеты программ Excel 2010, IBM SPSS Statistica, BioDiversity Pro.

Расчет индексов Шеннона и Симпсона производили по формулам $H = -\sum p_i \ln p_i$ и $D = \sum n_i(n_i - 1) / (N(N - 1))$ соответственно, 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.

Сравнение видового состава определяли по коэффициенту Сьеренсена–Чекановского: $K_s = 2c / (a + b)$, где a – число видов на первом участке, b – число видов на втором участке, c – общее число видов на первом и втором участках.



Рис. 1. Карта-схема отбора проб в оз. Лукомльское: А – подогреваемая зона; В – неподогреваемая зона

Fig. 1. Map-scheme of sampling in the lake. Lukomlskoe: А – heated area; В – not a heated area

Результаты и их обсуждение. Температурный и кислородный режим. Летом максимальная температура у поверхности в подогреваемой зоне составила 32,3 °С у выпуска, а на самой удаленной – 28,2 °С (среднее значение – 30,2 °С) (рис. 2). Минимальные показатели отмечались у дна: в подогреваемой зоне – 17,2 °С, в неподогреваемой – 16,4 °С. Разница между температурами подогреваемой и неподогреваемой зон сохранялась до глубины 4 м, а с увеличением глубины температурные значения не отличались (рис. 2). При этом вне зоны подогрева до глубины 4 м благодаря ветровому перемешиванию сохранялась постоянная температура – около 24 °С.

Осенью при подогреве поверхностная температура достигала только 22 °С, придонная – 17,8 °С, разница между температурами поверхности и дна составила менее 5 °С. На неподогретом участке температура от поверхности до дна была почти одинаковой – около 15 °С.

Если считать 25 °С пороговой температурой для развития зообентоса в средних широтах [11, 12], то как ограничивающий фактор температура может выступать только летом (в подогреваемой зоне – на глубине менее 4 м).

Как видно на рис. 3, летом разница в содержании кислорода между подогреваемой и неподогреваемой зонами наблюдается только в верхнем двухметровом слое, при этом она составляет около 1 мг/л у поверхности. От 3 м глубины идет достаточно резкое снижение концентрации кислорода до полного его исчезновения у дна.

Осенью в обеих зонах наблюдались почти одинаковые значения содержания растворенного кислорода по глубинам, при этом от поверхности до дна его изменение было незначительным – менее 1 мг/л (рис. 3).

Если рассматривать низкую концентрацию кислорода как ограничивающий фактор, то необходимо отметить его возможное влияние летом, на глубине более 6 м в обеих зонах, где содержание было ниже ПДК для рыбного населения (2 мг/л).

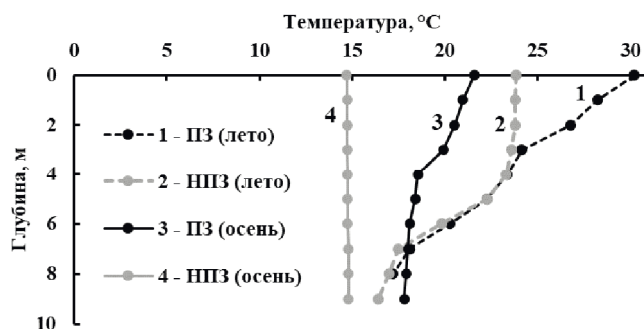


Рис. 2. Средние значения температуры воды на одинаковых глубинах разных станций в подогреваемой (ПЗ) и неподогреваемой (НПЗ) зонах в разные сезоны года

Fig. 2. Average water temperature values at the same depths of different stations in the heated and non-heated zone in different seasons of the year

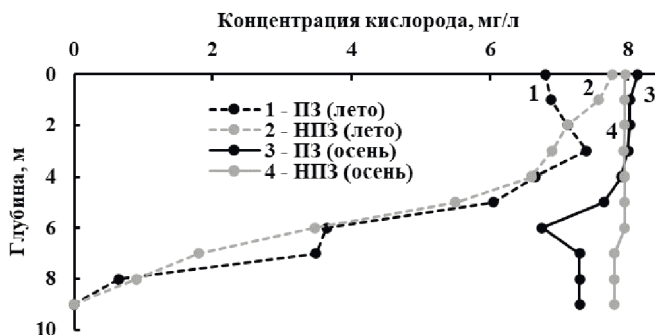


Рис. 3. Среднее содержание кислорода на одинаковых глубинах разных станций в подогреваемой (ПЗ) и неподогреваемой (НПЗ) зонах в разные сезоны года

Fig. 3. The average oxygen content at the same depths of different stations in the heated and non-heated zone in different seasons of the year

Таксономический состав подогреваемой и неподогреваемой зон в разные сезоны года. В целом для водоема было установлено 80 таксонов от вида и выше, что составляет около 30 % от организмов зообентоса, зарегистрированных за все время изучения начиная с 1932 г. [2]. Учитывая, что не все систематические группы определены до вида, в целом озеро характеризуется как ненарушенный, таксономически богатый водоем, исключая подогреваемую зону. Наибольшим видовым богатством характеризовались двукрылые (27 видов, из них 24 личинки хирономид), затем следовали моллюски (19 видов) и ручейники (13 видов) (табл. 1). Было определено два новых вида личинок хирономид: *Xenochironomus xenolabis* (Kieffer, 1916) и *Brillia modesta* (Meigen, 1830). На станции на глубине 1,5 м в неподогреваемой зоне летом найден один экземпляр бокоплава Палласа – реликтового рачка, внесенного в Красную книгу Беларуси. Этот стенотермный холодолюбивый вид уже много лет не встречался в озере [2]. Находка этого вида на такой глубине и при высокой температуре, возможно, связана с выходом родниковых вод в месте отбора, что требует дальнейшего специального изучения.

В подогреваемой зоне была встречена и пресноводная креветка *Macrobrachium nipponense* (De Naan, 1849), вселенная в озеро для обогащения кормовой базы, но не указанная в последнем перечне видов [2].

Т а б л и ц а 1. Таксономическая структура зообентоса оз. Лукомльское
T a b l e 1. Taxonomic structure of zoobenthos of the lake Lukomlskoe

Таксон	Лето		Осень	
	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева
Тип MOLLUSCA				
Класс Gastropoda				
Отр. Pulmonata				
Сем. Lymnaeidae				
<i>Lymnaea stagnalis</i> Linnaeus, 1758		+		+
<i>Lymnaea auricularia</i> Linnaeus, 1758	+	+	+	+
<i>Lymnaea peregra</i> O. F. Müller, 1774	+			
<i>Lymnaea ovata</i> (Draparnaud, 1805)				+
<i>Lymnaea lagotis</i> (Schränk, 1803)			+	+
<i>Lymnaea fusca</i> (C. Pfeiffer, 1821)				+
Сем. Physidae				
<i>Physa fontinalis</i> Linnaeus, 1758				+
Сем. Planorbidae				
<i>Planorbarius corneus</i> (Linnaeus, 1758)			+	+
Отр. Architaenioglossa				
Сем. Viviparidae				
<i>Viviparus viviparus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+		
Отр. Neotaenioglossa				
Сем. Bithyniidae				
<i>Bithynia leachii</i> (Sheppard, 1823)		+		+
<i>Bithynia tentaculata</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+
Сем. Valvatidae				
<i>Valvata piscinalis</i> (Müller, 1774)		+	+	+
<i>Borysthenia naticina</i> (Menke, 1846)	+	+		+
<i>Valvata lilljeborgi</i> (Westerlund, 1897)				+
<i>Valvata (Cincinna) depressa</i> (C. Pfeiffer, 1821)				+
Класс Bivalvia				
Отр. Unionoida				
Сем. Unionidae				
<i>Anodonta piscinalis</i> (Nilsson, 1823)				+
Отр. Veneroidea				
Сем. Sphaeriidae				
<i>Pisidium amnicum</i> (O. F. Müller, 1774)		+		+
<i>Pisidium</i> sp.		+		+

Продолжение табл. 1

Таксон	Лето		Осень	
	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева
Сем. Dreissenidae <i>Dreissena polymorpha</i> Pallas, 1771	+	+	+	+
Тип NEMATHELMINTHES				
Класс Nematoda <i>Nematoda gen. spp.</i>	+			
Тип ANNELIDA				
Класс Oligochaeta				
<i>Stylaria lacustris</i> (Linnaeus, 1767)	+	+		+
<i>Oligochaeta gen. spp.</i>	+	+	+	+
Класс Hirudinea				
Сем. Glossiphoniidae				
<i>Glossiphonia complanata</i> (Linnaeus, 1758)	+	+		+
<i>Helobdella stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	+	+		+
Сем. Erpobdellidae				
<i>Erpobdella octoculata</i> (Linnaeus, 1758)		+		+
<i>Erpobdella lineata</i> (Müller, 1774)				
Тип ARTROPODA				
Класс Crustacea				
Отр. Isopoda				
Сем. Asellidae				
<i>Asellus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	+	+		+
Класс Malacostraca				
Отр. Decapoda				
Сем. Palaemonidae				
<i>Macrobrachium nipponense</i> (De Haan, 1849)			+	
Отр. Amphipoda				
Сем. Gammaridae				
<i>Pallasiopsis quadrispinosa</i> Sars, 1867		+		
Класс Insecta				
Отр. Ephemeroptera				
Сем. Caenidae				
<i>Caenis horaria</i> Linnaeus, 1758	+	+	+	+
Сем. Baetidae				
<i>Baetis tricolor</i> (Tshernova, 1928)	+	+		
<i>Baetis vernus</i> (Curtis, 1834)		+		+
Отр. Trichoptera				
Сем. Ecnomidae				
<i>Ecnomus tenellus</i> (Rambur, 1842)		+	+	
Сем. Hydroptilidae				
<i>Oxyethira costalis</i> (Eaton, 1873)		+		
<i>Agraylea multipunctata</i> (Curtis, 1834)				+
Сем. Glossosomatidae				
<i>Agapetus sp.</i>		+		
Сем. Moiannidae				
<i>Molanna angustata</i> (Curtis, 1834)				+
Сем. Polycentropodidae				
<i>Cyrnus flavidus</i> (McLachlan, 1864)				+
<i>Neuroclipsis bimaculata</i> (Linne, 1758)			+	+
Сем. Leptoceridae				
<i>Oecetis ochracea</i> (J. Curtis, 1825)				+
<i>Oecetis lacustris</i> (Pictet, 1834)				+
<i>Leptocerus tineiformis</i> (Curtis, 1834)				+
<i>Mystacides longicornis</i> (Linnaeus, 1758)				+
<i>Mystacides spp.</i>				+

Продолжение табл. 1

Таксон	Лето		Осень	
	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева
Сем. Limnephilidae				
<i>Limnephilus fuscinervis</i> (Zetterstedt, 1840)				+
Отр. Megaloptera				
Сем. Sialidae				
<i>Sialis morio</i> (Klingstedt, 1933)				+
Отр. Odonata				
Сем. Coenagrionidae	+			
Отр. Heteroptera				
Сем. Corixidae				
<i>Micronecta</i> sp.		+		+
Сем. Aphelocheiridae				
<i>Aphelocheirus aestivalis</i> (Fabricius, 1794)				
Сем. Pleidae				
<i>Plea minutissima</i> (Leach, 1817)		+		
Отр. Coleoptera				
Сем. Haliplidae				
<i>Halipus</i> sp.		+	+	+
Сем. Chrysomelidae				
<i>Donacia</i> sp.				
Сем. Dytiscidae				
<i>Copelatus</i> sp.				+
Отр. Diptera				
Сем. Chironomidae				
Подсем. Chironominae				
<i>Chironomus</i> gr. <i>plumosus</i> (Meigen, 1830)	+	+	+	+
<i>Microtendipes pedellus</i> (De Geer, 1776)	+	+	+	+
<i>Cryptochironomus obreptans</i> (Walker, 1856)	+	+	+	+
<i>Einfeldia carbonaria</i> (Meigen, 1804)		+		
<i>Sergentia</i> gr. <i>longivenstris</i> (Kieffer, 1924)		+		
<i>Cladotanytarsus mancus</i> (Walker, 1856)	+	+	+	+
<i>Tanytarsus lobatifrons</i> (Kieffer, 1913)	+	+	+	+
<i>Tanytarsus gregarius</i> (Kieffer, 1909)	+	+		
<i>Polypedilum nubeculosum</i> (Meigen, 1804)	+	+	+	+
<i>Polypedilum</i> sp.		+		
<i>Glyptotendipes gripekoveni</i> (Kieffer, 1913)	+	+		
<i>Xenochironomus xenolabis</i> (Kieffer, 1916)		+		
<i>Dicrotendipes nervosus</i> (Staeger, 1839)		+	+	+
<i>Anatopynia plumipes</i> (Fries, 1823)	+			
<i>Endochironomus donatoris</i> (Shilova, 1974)		+		
Подсем. Orthocladinae				
<i>Cricotopus algarum</i> (Kieffer, 1911)		+		
<i>Cricotopus laidentatus</i> (Chernovskij, 1949)		+		
<i>Cricotopus sylvestris</i> (Fabricius, 1794)		+	+	+
<i>Limnophyes minimius</i> (Meigen, 1818)			+	
<i>Corynoneura</i> sp. (Winnertz, 1846)		+		+
<i>Brillia modesta</i> (Meigen, 1830)		+		
Подсем. Tanypodinae				
<i>Procladius</i> sp.	+	+	+	+
<i>Micropsectra praecox</i> (Wiedemann, 1818)	+	+		
Подсем. Diamesinae				
<i>Diamesa</i> sp.		+		
Сем. Ceratopogonidae				
<i>Ceratopogonidae</i> gen. spp.		+		
Сем. Tabanidae				

Окончание табл. 1

Таксон	Лето		Осень	
	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева
<i>Tabanidae gen. spp.</i>		+		+
Сем. Chaoboridae				
<i>Chaoborus. sp.</i>	+		+	+
Всего	27	50	23	51

В оба сезона года подогретые участки были более бедными в сравнении с неподогретыми, а видовое богатство в зоне подогрева было почти в 2 раза ниже.

Полученные результаты совпадают с данными о водоемах-охладителях Украины, согласно которым незначительный подогрев ведет к увеличению числа видов и некоторому увеличению биомассы, но только если в фауне есть теплолюбивые виды. Сильный же прогрев вызывает уменьшение числа видов и понижение численности и биомассы, причем температура около 25 °С уже является тем пределом, превышение которого ведет к сильному угнетению развития макрозообентоса [11, 12].

Кроме общего количества видов значительно меняется и соотношение групп. Особенно наглядно это прослеживается в наиболее представленном классе насекомых, где фаунистическая структура подогреваемых и неподогреваемых зон значительно отличается. Летом в подогреваемой зоне из 27 таксонов от вида и выше 11 (40,7 % от общего видового разнообразия) были представлены хирономидами, 6 (22,2 %) – моллюсками. В неподогретой части озера было обнаружено 50 таксонов от вида и выше, из них: 22 (44 %) – хирономиды, 10 (20 %) – моллюски, 5 (10 %) – пиявки и по 3 (6 %) – ручейники и поденки, остальные систематические группы представлены единичными таксонами от вида и выше (рис. 4). Большое количество видов хирономид, представленных в двух зонах, обусловлено высокой степенью адаптации этих видов к факторам среды обитания.

Осенью в подогреваемой зоне было отмечено 23 таксона и выше, из них: 10 (43,5 %) – хирономиды, 6 (26,1 %) – моллюски. В неподогреваемой зоне – 51 таксон от вида и выше: 17 (33,3 %) – моллюски, по 10 (19,6 %) – ручейники и хирономиды (рис. 5).

По сравнению с летним периодом осенью в неподогреваемой зоне процент встречаемости насекомых падает на 25 %, несмотря на то что систематических групп было больше (в единичных экземплярах обнаружены личинки жуков, ручейников и вислокрылок). Это связано с увеличением численности других представителей, например класса ракообразных (от 0,9 до 20,3 %) и брюхоногих моллюсков (от 2,25 до 13,3 %).

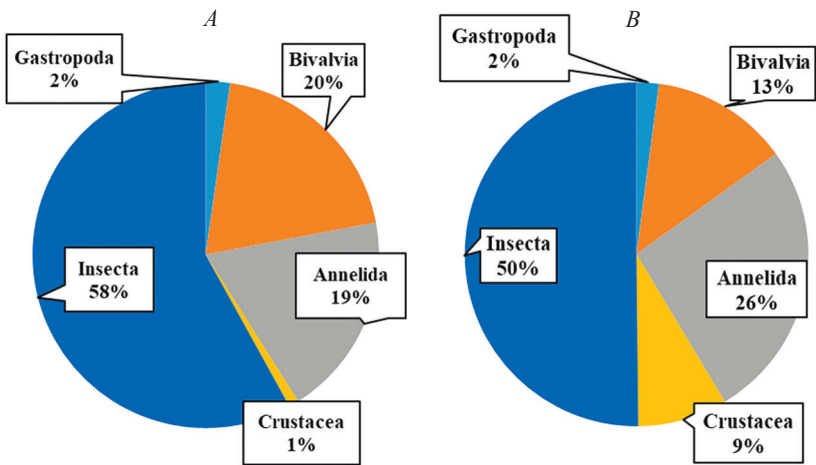


Рис. 4. Таксономическая структура зообентоса летом (А – неподогреваемая зона; В – подогреваемая зона)

Fig. 4. Taxonomic structure of zoobenthos in the summer (A – not heated area; B – heated area)

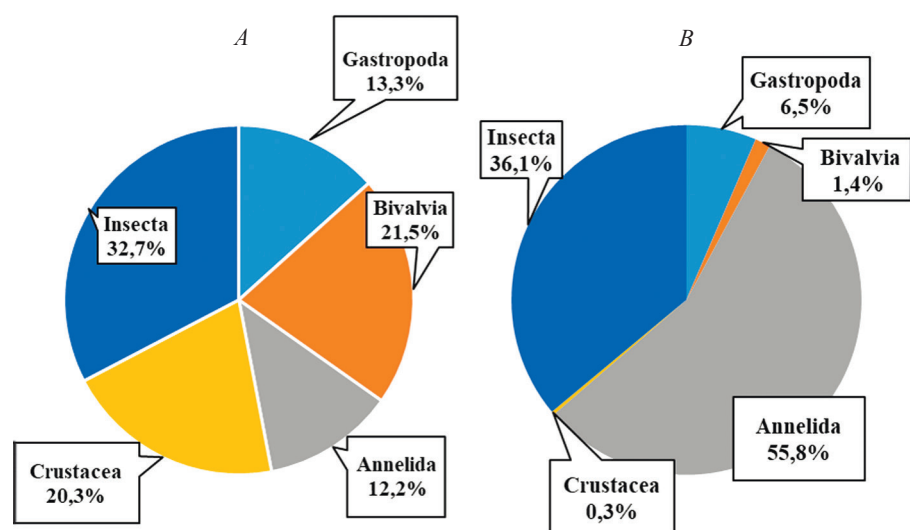


Рис. 5. Таксономическая структура зообентоса осенью (А – непогреваемая зона; В – подогреваемая зона)

Fig. 5. Taxonomic structure of the zoobenthos in the autumn (A – not a heated area; B – heated area)

Такую же картину можно наблюдать и в подогреваемой зоне, где также увеличивается численность брюхоногих моллюсков, но резко снижается доля двустворчатых моллюсков – с 12,94 до 1,41 %.

Общее фаунистическое сходство, рассчитанное таким образом, в оз. Лукомльское в обоих зонах и в разные периоды наблюдений составило около 50 % (от 37 до 59 %) (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Фаунистическое сходство разных зон озера в разные сезоны года, %

T a b l e 2. Faunal similarity of different zones of the lake in different seasons of the year, %

Зоны в разные сезоны года		Лето		Осень	
		Без подогрева	Подогрев	Без подогрева	Подогрев
Лето	Без подогрева	X			
	Подогрев	53	X		
Осень	Без подогрева	59	54	X	
	Подогрев	37	47	40	X

Максимальное сходство значений (59 %) наблюдалось между не подверженными подогреву акваториями летом и осенью. Из представленных в табл. 2 данных видно, что минимальное фаунистическое сходство (37 %) было между подогреваемой и непогреваемой зонами в разные сезоны года. Учитывая амфибионтность личинок насекомых, которые составляют значительную часть зообентоса, и известную закономерность вылета имаго в летний период, полученные величины показывают высокую степень сходства.

Анализ изменения фаунистического сходства в зависимости от глубины показал схожую ситуацию летом и осенью (рис. 6). Минимальные значения наблюдались в прибрежье, затем происходил их рост до глубины 6 м и незначительное снижение ко дну. Начиная с глубины 3 м индекс изменялся не так резко, как в вышележащих станциях отбора проб.

Незначительное сходство показателей в прибрежье и на малых глубинах можно объяснить разными температурными условиями, особенно в летний период. При этом осенью, когда разница составляла 8°, температура не являлась лимитирующим фактором. Одной из причин различий в прибрежной фауне может быть наличие течения в зоне выпуска подогретых вод, к которой были приурочены мелководные станции. Считается, что на зообентос при сбросе вод влияют «размывания грунта в местах сброса» и смывания органических частиц как основы питания большинства организмов бентоса [11–13].

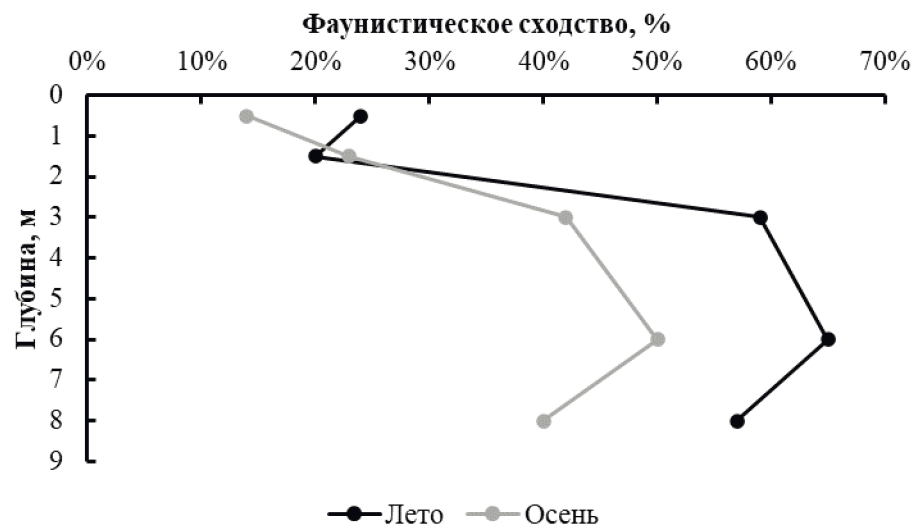


Рис. 6. Фаунистическое сходство зообентоса на разной глубине в подогреваемой и неподогреваемой зонах
Fig. 6. Faunal similarity of zoobenthos at different depths, heated and not heated zones

Вертикальная таксономическая структура зообентоса разных зон водоема. Количество таксонов, встречающихся на разной глубине, различалось как между подогреваемой и неподогреваемой зонами, так и между сезонами года (табл. 3). Среднее количество таксонов, найденных на станциях в подогреваемой зоне, было более чем в 2 раза ниже в оба сезона. При этом наблюдалась небольшая разница в этом показателе и между сезонами (летние сборы были более представительными).

Изменение видового богатства с глубиной идет по-разному в зоне подогрева и вне ее. Летом прогретое мелководье было значительно обеднено (всего 4–5 таксонов), затем на глубинах 3 и 6 м отмечалось увеличение численности таксонов и постепенное ее снижение при приближении к максимальной глубине. Осенью минимальное количество таксонов в подогретых водах наблюдалось на глубинах 0,5 и 8 м.

При естественных температурных условиях летом и осенью отмечалось снижение видового богатства от побережья к глубине. Прибрежные станции без подогрева и влияния сбросных вод отличались максимальным видовым разнообразием. Если летом это было менее выражено, то осенью число таксонов на прибрежной станции (43 формы) было более чем в 2 раза выше средней величины.

Т а б л и ц а 3. Изменение в зависимости от глубины показателей видового разнообразия в разных зонах озера летом и осенью

Table 3. Changes in the depth-dependent indicators of species diversity in different areas of the lake in summer and autumn

Глубина, м	К-во таксонов		Индекс Шеннона (H)		Индекс Симпсона (D)	
	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева
Лето						
0,5	5	29	0,16	1,68	0,3	0,2
1,5	4	28	0,31	2,37	0,2	0,1
3	15	21	1,76	1,37	0,2	0,5
6	15	23	1,51	1,91	0,3	0,2
8	8	7	1,47	0,92	0,3	0,5
Среднее	9,4	21,6	1,042	1,65	0,2	0,3
Осень						
0,5	4	43	0,66	2,62	0,1	0,1
1,5	12	14	1,55	1,19	0,2	0,4
3	8	16	1,01	1,48	0,5	0,4

Окончание табл. 3

Глубина, м	К-во таксонов		Индекс Шеннона (H)		Индекс Симпсона (D)	
	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева	Подогрев	Без подогрева
6	12	8	1,16	1,13	0,5	0,4
8	6	10	0,64	1,35	0,5	0,3
Среднее	8,4	18,2	1,00	1,55	0,36	0,32

Рассчитанный индекс видового разнообразия Шеннона соответствовал показателям видового богатства на разных глубинах отбора. Его средняя величина приблизительно в 1,5 раза была выше в не тронутой подогревом зоне. При этом изменение средних значений индекса выравниваемости в зависимости от глубины было незакономерным, а между зонами и между сезонами – незначительным.

Заклучение. Таким образом, оз. Лукомльское, несмотря на его длительное использование в качестве охладителя ГРЭС, остается достаточно богатым по таксономическому разнообразию водоемом, что свидетельствует о ненарушенности в нем естественных процессов продуцирования и трансформации вещества и энергии. Под влиянием подогрева наблюдается только локальное снижение видового разнообразия зообентоса: видовое богатство в подогреваемой зоне в 2 раза ниже, чем в зоне без подогрева. На развитие зообентоса негативно влияют высокая температура (свыше 25 °С) и течение, создаваемое на акватории при выпуске подогретой воды. Наиболее значимо это проявляется в летнее время. Подогрев изменяет и таксономическую структуру зообентоса на разных глубинах, обедняя прибрежные биотопы.

Благодарности. Работа частично поддержана грантом БРФФИ №Б18МС-16. Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией гидробиологии, члену-корреспонденту НАН Беларуси В. П. Семенченко за ценные советы и замечания при написании статьи.

Acknowledgements. This work is partially supported by BRFFI grant no. B18MS-16. The authors are grateful to the head of the Hydrobiology laboratory, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus V. P. Semchenko for valuable advice and comments when writing the article.

Список использованных источников

1. Гусева, С. А. Да пазнання заапланктону і заабентасу азёр БССР / С. А. Гусева // Вуч. запіскі БДУ. – 1936. – № 28. – С. 177–200.
2. Экосистема водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС / П. А. Митрахович [и др.] ; Белорус. гос. ун-т. – Минск : Право и экономика, 2008. – 144 с.
3. Каратаев, А. А. Воздействие подогрева на пресноводные экосистемы / А. А. Каратаев. – Минск, 1990. – 132 с. Деп. в ВИНТИ 07.05.1990. – № 2440-90.
4. Блакітная кніга Беларусі: энцыклапедыя / рэдкал. : Н. Ф. Дзісько і інш. – Минск : БелЭн, 1994. – 415 с.
5. Качалова, О. Л. Отряд ручейники Trichoptera / О. Л. Качалова, Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / под ред. Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатова. – Л., 1977. – С. 477–510.
6. Лукин, Е. И. Класс пиявки Hirudinea / Е. И. Лукин, Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / под ред. Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатова. – Л., 1977. – С. 201–212.
7. Попова, А. Н. Отряд стрекозы Odonata / А. Н. Попова, Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / под ред. Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатова. – Л., 1977. – С. 266–287.
8. Макаренко, Е. А. Семейство комары звонцы Chironomidae / Е. А. Макаренко, С. Я. Цалохина // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий : в 6 т. / под ред. С. Я. Цалолихина. – СПб., 1999. – Т. 4 : Высшие насекомые. Двукрылые / Р. В. Андреева [и др.]. – С. 210–296.
9. Богатов, В. В. Класс Двустворчатые моллюски / В. В. Богатов, П. В. Кияшко // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России : в 2 т. / под ред. В. Р. Алексеева, С. Я. Цалолихина. – М. ; СПб., 2016. – Т. 2 : Зообентос. – С. 285–335.
10. Кияшко, П. В. Класс Брюхоногие моллюски / П. В. Кияшко, Е. В. Солдатенко, М. В. Винарский // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России : в 2 т. / под ред. В. Р. Алексеева, С. Я. Цалолихина. – М. ; СПб., 2016. – Т. 2 : Зообентос. – С. 335–439.
11. Мордухай-Болтовской, Ф. Д. Проблема влияния тепловых и атомных электростанций на гидробиологический режим водоемов (обзор) / Ф. Д. Мордухай-Болтовской // Тр. Ин-та биол. внутр. вод Акад. наук СССР. – 1975. – Вып. 27 (30). – С. 7–69.

12. Силаева, А. А. Особенности структуры зообентоса техноэкосистем АЭС и ТЭС / А. А. Силаева // Экология водоемов – охладителей энергетических станций : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (13–16 сент. 2017 г., г. Чита) / Забайкал. гос. ун-т ; отв. ред. Г. Ц. Цыбекмитова. – Чита, 2017. – С. 243–251.
13. Протасов, А. А. Контурные группировки гидробионтов в техно-экосистемах ТЭС и АЭС / А. А. Протасов, А. А. Силаева. – Киев : Ин-т гидробиологии НАН Украины, 2012. – 274 с.

References

1. Guseva S. A. To the knowledge of zooplankton and zaabentas lakes of the BSSR. *Vuchonyya zapiski Belaruskaga dzyarzhavnaga universiteta* [Scientific notes of the Belarusian State University], 1936, no. 28, pp. 177–200 (in Belarusian).
2. Mitrakhovich P. A., Samoilenko V. M., Kartashevich Z. K., Svirid A. A., Kozlov E. A., Korolev G. N., Papko N. A. *The ecosystem of the cooling pond of Lukoml*. Minsk, Belarusian State University, 2008. 144 p. (in Russian).
3. Karataev A. A. *Impact of heating on freshwater ecosystems*. Minsk, 1990. – 132 p. (in Russian).
4. Dzis'ko N. F. *Blakitnaya kniga Belarusi: encyklopedyya*. Minsk, BelEn Publ., 1994. 415 p. (in Belarusian).
5. 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).
6. 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).
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. Makarchenko E. A., Tsalokhina S. Ya. *Chironomidae. Key to freshwater invertebrates of Russia and adjacent lands. Vol. 4. Higher insects. Diptera*. St. Petersburg, 1999, pp. 210–296 (in Russian).
9. Bogatov V. V., Kiyashko P. V. Class Bivalve molluscs. *Keys to zooplankton and zoobenthos of fresh waters of European Russia. Vol. 2. Zoobenthos*. Moscow, St. Petersburg, 2016, pp. 285–335 (in Russian).
10. Kiyashko P. V., Soldatenko E. V., Vinarskii M. V. Class Gastropods. *Keys to zooplankton and zoobenthos of fresh waters of European Russia. Vol. 2. Zoobenthos*. Moscow, St. Petersburg, 2016, pp. 335–439 (in Russian).
11. Mordukhai-Boltovskoi F. D. The problem of influence of thermal and nuclear power plants on the hydrobiological regime of reservoirs. *Trudy Instituta biologii vnutrennikh vod Akademii nauk SSSR* [Proceedings of the Institute for Biology of Inland Waters of the USSR Academy of Sciences], 1975, iss. 27 (30), pp. 7–69 (in Russian).
12. Silaeva A. A. Features of Zoobenthos Structure of Technoecosystems of Thermal and Nuclear Power Plants. *Ekologiya vodoemov – okhladitelei energeticheskikh stantsii : sbornik materialov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (13–16 sentyabrya 2017 goda, Chita)* [Ecology of reservoirs – coolers of power plants : collection of materials of the All-Russian scientific-practical conference with international participation (September 13–16, 2017, Chita)]. Chita, 2017, pp. 243–251 (in Russian).
13. Protasov A. A., Silaeva A. A. *Contour groupings of hydrobionts in techno-ecosystems of TPP and NPP*. Kiev, Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2012. 274 p. (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.lapuka@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

Information about the authors

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

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 582.675.1:57.032:547.562.4:543.645.9

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-205-214>

Поступила в редакцию 18.11.2020

Received 18.11.2020

А. М. Деева, Е. А. Войцеховская, Е. В. Спиридович, В. Н. Решетников

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ ПИОНА ДРЕВОВИДНОГО (*PAEONIA SUFFRUTICOSA* ANDR.) И ИХ АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ

Аннотация. Древовидный пион, который считается традиционным декоративным растением в Китае, Японии, Америке и странах Европы, широко используется и как лекарственное растение. Коллекция древовидных пионов в ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» представлена четырьмя таксонами. Целью нашей работы было оценить суммарное содержание фенольных соединений (ФС) и гидроксикоричных кислот (ГК) в листьях рода *Paeonía*, а также антиоксидантный статус данных образцов в зависимости от фазы онтогенеза.

В результате проведенных исследований установлено высокое содержание ФС и ГК в листьях исследованных таксонов рода *Paeonía*, в том числе превышавшее порог в 65 мг/г сырого веса в листьях *Paeonía suffruticosa* во всех наблюдаемых фазах онтогенеза. В изученных сортах доля ГК в составе ФС составляла от 25 до 50 %. Максимальной антиоксидантной активностью обладали экстракты листьев рода *Paeonía*, собранных в период цветения. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что надземную часть рода *Paeonía* можно рассматривать в качестве перспективного сырья для создания фитопрепаратов, обладающих антиоксидантным действием.

Ключевые слова: *Paeonía suffruticosa*, *Paeonía potanina*, *Paeonía ludlowii*, фенольные соединения, гидроксикоричные кислоты, антиоксидантная активность, фазы онтогенеза, корреляция

Для цитирования: Содержание фенольных соединений в листьях пиона древовидного (*Paeonía suffruticosa* Andr.) и их антиоксидантная активность / А. М. Деева [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 205–214. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-205-214>

Alla M. Deeva, Alena A. Voizechovskaia, Alena V. Spiridovich, Vladimir N. Reshetnikov

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

THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE LEAVES OF *PAEONIA SUFFRUTICOSA* ANDR. AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY

Abstract. The tree peony, which is considered a traditional ornamental plant in China, Japan, America and Europe, is also widely used as a medicinal plant. The collection of tree peonies in the State Scientific Institution “Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus” is represented by four taxa. The aim of our work was to assess the quantitative composition of the sum of phenolic compounds and hydroxycinnamic acids in the leaves of the genus *Paeonía*, as well as to assess the antioxidant status of these samples depending on the phase of ontogenesis. As a result of the studies, a high content of phenolic compounds and hydroxycinnamic acids in the leaves of the studied taxa of the genus *Paeonía* was established, including the content exceeding the threshold of 65 mg/g in the leaves of *Paeonía suffruticosa* in all observed phases of ontogenesis. In the studied varieties, the proportion of hydroxycinnamic acids in the composition of phenolic compounds ranged from 25 to 50 %. Extracts of leaves of the *Paeonía* genus collected during the flowering period had the maximum antioxidant activity. Thus, the above data indicate that the aerial part of the *Paeonía* genus can be considered as a promising raw material for the creation of herbal remedies with antioxidant action.

Keywords: *Paeonía suffruticosa*, *Paeonía potanina*, *Paeonía ludlowii*, phenolic compounds, hydroxycinnamic acids, antioxidant activity, phases of ontogenesis, correlation

For citation: Deeva A. M., Voizechovskaia A. A., Spiridovich A. V., Reshetnikov V. N. The content of phenolic compounds in the leaves of *Paeonía suffruticosa* Andr. and their antioxidant activity. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 205–214 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-205-214>

Введение. Род *Paeonía* L., относящийся к семейству *Paeniaceae*, включает более 50 видов, большинство из которых являются травянистыми многолетними растениями, а незначительная часть – древовидными [1–3].

По данным Ф. Стерна [4], род *Paeonía* относится к монотипному семейству *Paeniaceae* и насчитывает 33 вида и 14 разновидностей. J. Halda [5] включает в семейство *Paeniaceae* еще и род

Glaucidium, а в роде *Paeonia* выделяет 25 видов, 33 подвида и 14 разновидностей. Большая часть видов распространена в Европе, Восточной и Юго-Восточной Азии, два вида произрастают в Северной Америке и один – в Северной Африке. Многие виды обитают в горных районах, в лесном и субальпийском поясах. Так называемые древовидные пионы, объединенные в секцию *Moutan*, произрастают только на территории Китая и насчитывают 9 видов, разделенных на две подсекции: *Delavayanae* и *Vaginatae*. Все древовидные пионы произрастают в горах на высоте 1100–3800 м над уровнем моря, в умеренной субтропической климатической зоне [6].

Paeonia suffruticosa – очень популярное декоративное цветущее растение, которое впервые было культивировано более 1600 лет назад в Китае и в настоящее время распространено по всему миру. Этот вид принадлежит к семейству *Paeoniaceae* и был назван «королем цветов» за эффектные и яркие цветки [1]. Среди множества расцветок цветков этого вида большинство укладывается в два кластера: монохромный (красный, розовый, белый, фиолетовый, черный, синий, зеленый и желтый цвета) и двухцветный. Сорта с двухцветным фенотипом встречаются реже и более востребованы, поэтому имеют большую декоративную и коммерческую ценность [7].

Древовидный пион, который считается традиционным декоративным растением в Китае, Японии, Америке и странах Европы, широко используется и как лекарственное растение [8]. Биологически активные соединения были найдены в различных частях пионов древовидных. Так, сухие корни *P. lactiflora* и сухая кора корня *P. suffruticosa* сем. *Paeoniaceae* (традиционные названия *Paeoniae radix* и *Moutan cortex*) долгое время использовались в народной медицине разных стран (Корея, Китай и Япония), в частности в качестве лекарств при сердечно-сосудистых заболеваниях, для улучшения кровообращения и других целей. Было высказано предположение, что оба растения могут содержать общие активные компоненты, которые способствуют ингибированию свертывания крови и агрегации тромбоцитов [9]. Сухая кора корня пиона официально зарегистрирована во всех изданиях Китайской фармакопеи и широко используется в составных препаратах традиционной китайской медицины для улучшения кровообращения и устранения застоя крови [10, 11].

Средняя годовая урожайность семян пиона составляет до 3750 кг/га. Однако в последнее десятилетие этот растительный ресурс все больше привлекает внимание исследователей, поскольку было обнаружено, что семена пиона, особенно его масла, богаты ненасыщенными жирными кислотами, аминокислотами, стильбеноидами и другими веществами [10, 11]. Учеными из Китая [12] было получено масло из семян *P. suffruticosa* Andr., химический анализ которого показал, что в нем особенно высокое содержание α -линоленовой кислоты (>38 %), довольно низкое отношение n-6 к n-3 полиненасыщенных жирных кислот (0,69) и гораздо более высокое содержание γ -токоферола, чем в других растительных маслах. Анализ *in vitro* показал, что у масла семян пиона антирадикальная активность (АРА) более высокая, чем у оливкового масла первого отжима. Умеренное потребление масла из семян *Paeonia* оказывает антиокислительное воздействие как при остром повреждении печени у мышей, вызванном тетрахлорметаном, так и при гиперлипидемии у крыс, вызванной диетой [12].

Цветки древовидного пиона богаты питательными белками, микроэлементами и витаминами, и их используют в китайской традиционной кухне со времен династии Сун (960–1279 гг.) [13]. Цветки и корни применяют в народной медицине при заболеваниях, связанных с нарушением менструального цикла, и при дисменорее [14, 15], а экстракты цветков – для производства средств по уходу за кожей (они помогают повысить эластичность кожи и снизить пигментацию). Цветки древовидного пиона, используемые в традиционной медицине и в составе функциональных пищевых продуктов, обладают антимуtagenной, противоопухолевой, сосудопротекторной, противовоспалительной и антиоксидантной функциями [16].

С помощью ВЭЖХ с диодно-матричным детектором и ВЭЖХ-электрораспылительной ионизации-масс-спектрометрии в цветках древовидного пиона были идентифицированы и количественно определены 26 флавоноидов, основными из которых являлись гликозиды кемпферола, лютеолина и апигенина, а также изосалипурпозид. Кроме того, высокую антиоксидантную активность продемонстрировали экстракты лепестков [1]. В течение длительного времени исследования были сосредоточены в основном на пеоноле, пеонифлорине и других биоактивных компонентах венчика, листьев, а также коры корня [1, 17, 18]. Хорошо известно, что лечебные свойства

растений данного вида обусловлены высоким содержанием фенольных соединений (ФС), которые проявляют высокую АРА [19].

В Беларуси древовидные пионы встречаются редко. Их выращивают в ботанических садах, а также цветководы-любители. В озеленительных посадках древовидные пионы используются реже из-за трудностей в получении посадочного материала. В Центральный ботанический сад НАН Беларуси растения видового древовидного пиона были интродуцированы в 1980-е годы [20].

Цель настоящей работы – оценить суммарное содержание фенольных соединений и гидроксикоричных кислот в листьях четырех таксонов рода *Paeonia*, а также антиоксидантный статус данных образцов в зависимости от фазы онтогенеза.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования явились древовидные пионы из коллекции ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», представленной четырьмя таксонами: *Paeonia suffruticosa*, *Paeonia potaninii*, пионом полукустарниковым сортовым, *Paeonia ludlowii*.

Содержание гидроксикоричных кислот (ГК) определяли спектрофотометрическим методом [21]. Экстракт сбора сухого (0,5 г) растворяли в 100 мл 70 %-ного этилового спирта, раствор фильтровали. Полученный раствор (2 мл) помещали в мерную колбу (25 мл) и доводили до метки 70 %-ным этиловым спиртом. Оптическую плотность данного раствора измеряли на спектрофотометре Agilent 8453 при длине волны 329 нм. Толщина рабочего слоя кюветы – 1 см. Количественное содержание ГК определяли в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Суммарное содержание ФС в листьях четырех таксонов рода *Paeonia* определяли модифицированным методом Фолина–Чокальтеу [22]. Для калибровки использовали галловую кислоту в диапазоне концентраций от 0,15 до 1,0 г/л. Результаты выражали в миллиграммах эквивалента галловой кислоты в 1 г сырой массы.

Антиоксидантные свойства исследуемых образцов оценивали в системе с катион-радикалами АБТС⁺. Катион-радикал АБТС⁺ получали при инкубации смеси, содержащей 7 мМ диаммонийной соли 2,2'-азинобис-3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты и 2,45 мМ натрия персульфата в течение 12–16 ч. Реакционная смесь состояла из 2 мл АБТС⁺ и 30–300 мкл исследуемых экстрактов, разведенных в соотношении 1:10 водно-спиртовым экстрагентом. Кинетику изменения оптической плотности измеряли при 734 нм в течение 1 и 6 мин на спектрофотометре Agilent 8453. Контролем служила проба без экстракта [23]. Для сравнительной оценки антиоксидантной активности использовали антиоксидантный параметр, который рассчитывали как тангенс угла наклона прямых зависимостей $D_0 - D$ от количества сухого вещества (в граммах), используемого для реакции, и тролокса (в микромолях), а также параметр антиоксидантной активности (АОА), представляющей собой величину, показывающую количество микромолей эквивалента тролокса на 1 г сырой массы образца.

Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIII ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» [24].

Результаты и их обсуждение. Суммарное содержание ФС в листьях изученных таксонов рода *Paeonia* в фазу бутонизации колебалось в пределах от $47,9 \pm 2,0$ мг/г сырого веса в образце *Paeonia ludlowii* до $98,7 \pm 4,1$ мг/г сырого веса в листьях таксона *Paeonia suffruticosa*, а содержание ГК в их составе – в пределах от $17,0 \pm 2,3$ мг/г сырого веса в образце *Paeonia ludlowii* в фазу бутонизации до $31,4 \pm 1,6$ мг/г сырого веса для листьев *Paeonia potaninii* в фазу массового цветения. При этом следует выделить таксон *Paeonia suffruticosa*, в листьях которого во всех фазах онтогенеза суммарное содержание ФС превышало 65 мг/г сырого веса. Также следует отметить, что доля ФС в листьях исследуемых таксонов рода *Paeonia* в фазу массового цветения на 32–52 % выше, чем в фазу бутонизации, и на 50–60 % выше, чем в фазу созревания семян.

Содержание ГК также варьировалось: в зависимости от фазы онтогенеза и в фазу цветения оно было выше на 43–59 %, чем в фазу бутонизации, а в фазу созревания семян – на 26–30 % ниже, чем в фазу массового цветения. Данные показатели значительно меньше (на 2–10 %) варьировались между фазами онтогенеза в листьях *Paeonia ludlowii*, что, возможно, связано с малым

количеством цветков на кусте изучаемого таксона в 2020 г. Доля ГК в составе ФС составляла для исследованных образцов от 25 до 50 % (табл. 1).

Для выявления перспективного таксона как источника высокой АРА было проведено исследование АРА спиртовых экстрактов листового материала, а также оценено влияние фазы онтогенеза растения на общую АРА [25] (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Биологически активные соединения и антиоксидантная активность листьев четырех таксонов рода *Paeonia* в зависимости от фазы онтогенеза

Table 1. Biologically active compounds and antioxidant activity in leaves of four taxa of the genus *Paeonia* depending on the phase of ontogenesis

Фаза онтогенеза	Таксон	Содержание ГК, мг/г сырого веса	Суммарное содержание ФС, мг/г сырого веса	Соотношение между содержанием ГК и ФС, мг/мг	АОА, мкмоль тролокса/г сырого веса	
					1 мин эксперимента	6 мин эксперимента
Бутонизация	<i>Paeonia suffruticosa</i>	17,9 ± 1,4	72,9 ± 2,3	0,25	27,28	29,14
	<i>Paeonia potaninii</i>	19,7 ± 1,1	50,4 ± 2,7	0,39	20,23	24,06
	Пион полукустарниковый сортовой	18,4 ± 1,7	59,8 ± 2,3	0,31	26,6	31,5
	<i>Paeonia ludlowii</i>	17,0 ± 2,3	47,9 ± 2,0	0,35	19,53	21,02
Массовое цветение	<i>Paeonia suffruticosa</i>	28,3 ± 2,1	98,7 ± 4,1	0,29	37,41	42,82
	<i>Paeonia potaninii</i>	31,4 ± 1,6	77,1 ± 3,4	0,41	30,51	35,27
	Пион полукустарниковый сортовой	26,4 ± 1,1	79,3 ± 3,2	0,33	35,16	37,95
	<i>Paeonia ludlowii</i>	21,7 ± 0,9	53,1 ± 2,0	0,41	24,21	27,08
Созревание семян	<i>Paeonia suffruticosa</i>	22,4 ± 1,2	66,2 ± 1,8	0,34	30,04	32,54
	<i>Paeonia potaninii</i>	24,5 ± 1,5	48,3 ± 2,2	0,51	23,91	25,51
	Пион полукустарниковый сортовой	20,2 ± 1,1	50,7 ± 3,2	0,40	31,08	33,98
	<i>Paeonia ludlowii</i>	19,4 ± 0,8	51,9 ± 2,4	0,37	22,11	25,77

Согласно результатам, приведенным в табл. 1, АОА, измеренная при помощи АБТС⁺, колебалась в пределах от 19,51 до 37,41 мкмоль тролокса/г сырого веса после 1 мин проведения эксперимента. Наименьшей АОА (менее 25 мкмоль тролокса/г сырого веса) обладали таксоны *Paeonia potaninii* (фазы бутонизации и созревания семян), *Paeonia ludlowii* (фазы бутонизации и созревания семян). АОА для таксонов *Paeonia suffruticosa* (фаза массового цветения) и пиона полукустарникового сортового (фаза массового цветения) превышала значение 35 мкмоль тролокса/г сырого веса уже после 1 мин реакции.

Наши исследования показали, что наиболее высокая АРА отмечается в фазу массового цветения растений рода *Paeonia*. Уровень АОА, измеренной в системе с АБТС⁺ катион-радикалами, в фазу массового цветения был на 25–50 и 10–27 % выше, чем в фазу бутонизации и в фазу созревания семян соответственно. Положительное действие фазы онтогенеза выявлено по отношению как к неферментным компонентам антиоксидантной системы (время реакции системы 1 мин), так и к ферментным (время реакции системы 6 мин) (табл. 1).

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что повышение уровня АРА клеток и синтеза в них биологически активных веществ (БАВ) связано с реакцией на стрессовые условия окружающей среды и, как следствие, с индукцией биосинтеза БАВ в листьях в период массового цветения растений рода *Paeonia*.

Сравнение характера кинетических кривых рис. 1 и показателей АОА в течение 1 и 6 мин реакции показало, что соединения, обладающие активностью, реагировали с катион-радикалами в течение первой минуты, обеспечивая 80–93 % вклада в АОА, а затем протекала более медленная стадия, на протяжении которой происходила реакция с катион-радикалами продуктов окисления ФС, образовавшихся на начальной стадии процесса, как это было показано ранее [8], и ферментных компонентов антиоксидантной системы.

На рис. 2, 3 представлена корреляционная связь между величиной АОА после 1 и 6 мин эксперимента и содержанием ГК и ФС (мг/г сырого веса). Более тесная корреляционная связь была

выявлена между уровнем ФС и величиной АРА в листьях таксонов рода *Paeonia*. Коэффициент корреляции между АОА и содержанием ФС составлял 0,84 и 0,86 (соответственно после 1 и 6 мин испытаний) и был выше, чем между показателем АОА и содержанием ГК, – 0,66 и 0,69 (после 1 и 6 мин эксперимента) (табл. 2).

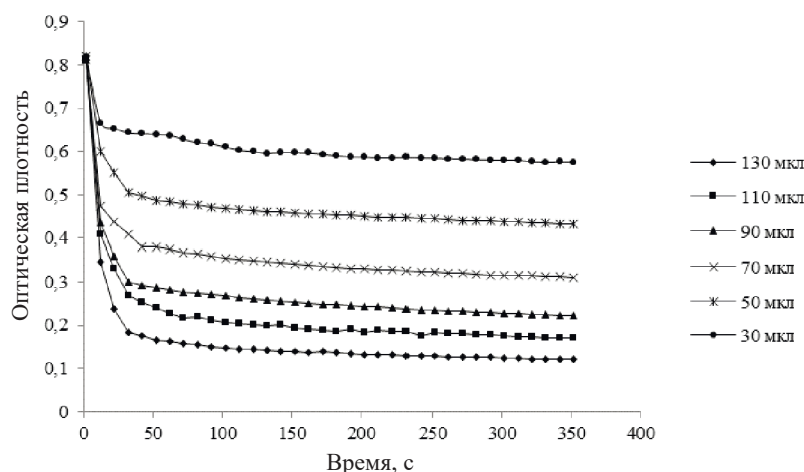


Рис. 1. Кинетические кривые обесцвечивания раствора в модельной системе с катион-радикалами АБТС⁺⁺ в присутствии различных объемов экстракта листьев *Paeonia suffruticosa*

Fig. 1. Kinetic curves of solution decolorization in a model system with radical cations ABTC⁺⁺ in the presence of different volumes of *Paeonia suffruticosa* leaf extract

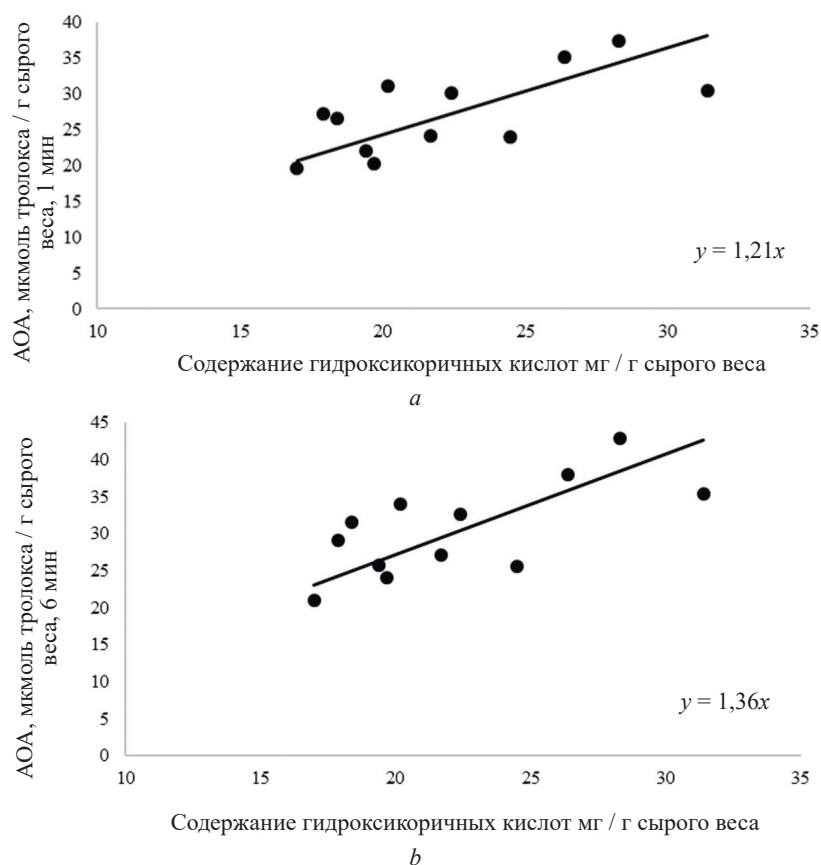


Рис. 2. Корреляционная связь между АОА и содержанием гидроксикирочных кислот в четырех таксонах рода *Paeonia* после 1 (а) и 6 (b) мин эксперимента

Fig. 2. Correlation relationship between antioxidant activity and the content of hydroxycinnamic acids in four taxa of the genus *Paeonia* after 1 (a) and 6 (b) minutes of the experiment

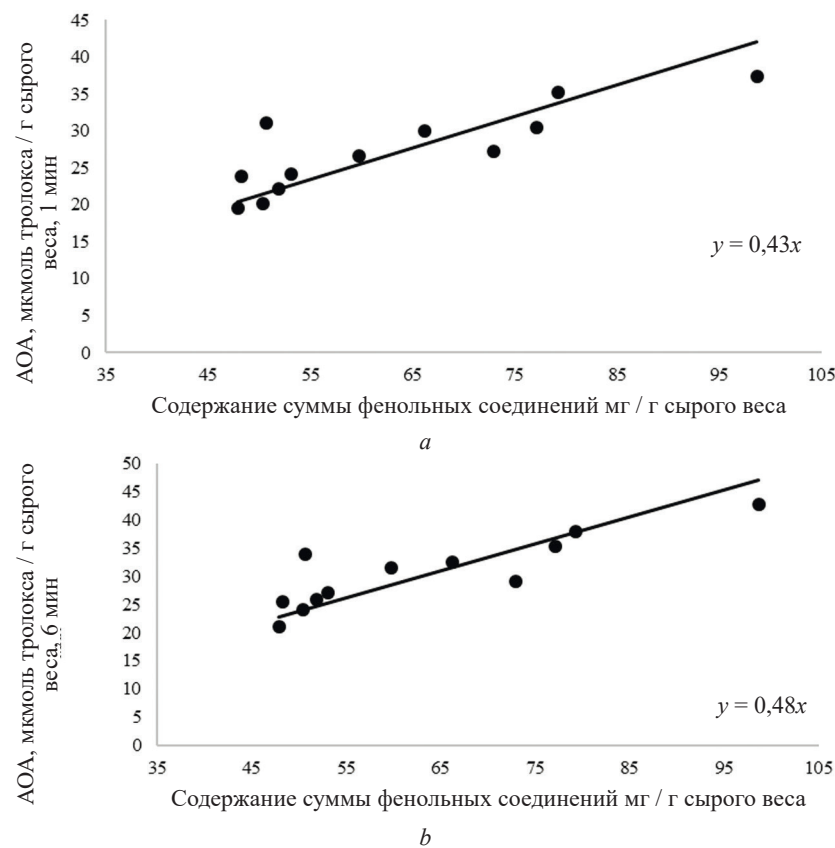


Рис. 3. Корреляционная связь между АОА и содержанием фенольных соединений в четырех таксонах рода *Paeonia* после 1 (а) и 6 (b) мин эксперимента

Fig. 3. Correlation relationship between antioxidant activity and the content of phenolis compounds in four taxa of the genus *Paeonia* after 1 (a) and 6 (b) minutes of the experiment

Все коэффициенты корреляции являлись значимыми на основании того, что расчетные значения критерия Стьюдента во всех корреляционных полях превышали табличные при количестве степеней свободы, равном 10, и уровне значимости $p < 0,05$, т. е. выявлена реальная положительная корреляционная связь между АОА и содержанием ФС и ГК (табл. 2). Причем корреляционная связь между АОА и содержанием ФС являлась наиболее тесной. Из изложенного выше следует, что более высокой АОА обладали таксоны в фазу цветения, что происходило вследствие повышенного синтеза соединений фенольной природы в данную фазу онтогенеза, причем доля ГК достигала 43 %. Таким образом, АОА листьев рода *Paeonia* и фитопрепаратов на их основе может быть достоверно оценена по содержанию фенольных веществ в их составе.

Т а б л и ц а 2. Коэффициенты корреляции между уровнем АОА, измеренной в системе с катион-радикалами АБТС⁺, и содержанием гидроксикоричных кислот и фенольных соединений в листьях таксонов рода *Paeonia*, произрастающих в ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

Table 2. Correlation coefficients between the level of antioxidant activity measured in the system with radical cations АБТС⁺ and the content of hydroxycinnamic acids and phenolic compounds in the leaves of taxa of the *Paeonia* genus growing in the State Scientific Institution “Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus”

Корреляционные переменные		Коэф. коррел.	Степени свободы	Уровень значимости	Критерий Стьюдента	
					расчетный	табличный
ГК-АОА	1 мин	0,66	10	0,05	2,793	2,228
	6 мин	0,69	10	0,05	2,978	2,228
ФС-АОА	1 мин	0,84	10	0,05	4,911	2,228
	6 мин	0,86	10	0,05	5,330	2,228

Т а б л и ц а 3. Результаты дисперсионного анализа полученных данных

Table 3. Results of analysis of variance

Источник вариации	SS	df	MS	F	p	F _{крит}
Выборка	1230,506	2	615,2528	10,22373	3,0·10 ⁻⁴	3,259446306
Столбцы	12278,87	3	4092,958	68,0132	6,7·10 ⁻¹⁵	2,866265551
Взаимодействие	453,2963	6	75,54939	1,255414	3,0·10 ⁻⁴	2,363750958
Внутри	2166,44	36	60,17888			
Итого	16129,11	47				

Исходя из данных табл. 3, значение F -критерия фактора А – таксон, $F_{\text{набл}} = 10,2$, $F_{\text{крит}}$ лежит в интервале $3,26...+\infty$, а $F_{\text{набл}}$ – в критической области. Следовательно, таксон влияет на содержание БАС фенольной природы и на уровень АРА. Выборочный коэффициент детерминации для фактора А равен 7,5 %, что свидетельствует о низком влиянии данного фактора на исследуемые величины. То же и в отношении фактора В (фаза онтогенеза) – $F_{\text{набл}} = 68,01$, $F_{\text{крит}} = 2,87$. Выборочный коэффициент детерминации для фактора А равен 76,1 %, следовательно, фаза онтогенеза довольно сильно влияет на содержание БАС и уровень АОА. Учитывая значения факторов ($F_{\text{крит}} = 2,36$, $F_{\text{набл}} = 1,25$), отметим: так как $F_{\text{набл}}$ не входит в интервал $2,36...+\infty$, значит, взаимодействия между факторами (таксон, фаза онтогенеза) не наблюдается.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено высокое содержание ФС и ГК в листьях четырех таксонов рода *Paeonia*, в том числе превышавшее порог в 65 мг/г сырого веса в листьях *Paeonia suffruticosa* во всех наблюдаемых фазах онтогенеза. В изученных сортах доля ГК в составе ФС составляла от 25 до 50 %. Установлена высокая АОА листьев четырех таксонов рода *Paeonia* в системе с катион-радикалами АБТС⁺. По результатам дисперсионного анализа выявлено влияние фазы онтогенеза на накопление биологически активных соединений фенольной природы и уровень АРА (выборочный коэффициент детерминации равен 76 %). Максимальной АРА обладали экстракты листьев рода *Paeonia*, собранных в период цветения. Данный факт обусловлен особенностями состава и количественного содержания полифенольного комплекса листьев пионов, который участвует в процессах нейтрализации свободных радикалов и оказывает влияние на различные этапы окислительных процессов с участием активных форм кислорода. Также показано наличие положительной корреляции между АОА, содержанием ФС и ГК, что может быть использовано для оценки биологической активности листьев пионов и фитопрепаратов на их основе. Наиболее тесная корреляционная связь установлена между показателем АОА и содержанием ФС, поэтому именно использование количественной оценки содержания ФС может рассматриваться как наиболее приемлемый показатель для экспрессной оценки АОА растительного сырья. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что надземную часть рода *Paeonia* можно рассматривать в качестве перспективного сырья для создания фитопрепаратов, обладающих антирадикальным действием.

Благодарности. Работа выполнена в рамках ГПНИ «Природопользование и экология» подпрограммы 2 «Биоразнообразие, биоресурсы, экология», задание 2.37. Авторы статьи выражают благодарность научному сотруднику лаборатории интродукции и селекции орнаментальных растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» В. В. Гайшун за предоставленный растительный материал.

Acknowledgements. The research was funded by State Program of Scientific Research “Nature management and ecology”, subprogram 2 “Biodiversity, biological resources, ecology”, task 2.37. We would like thanks for the plant samples provided to researcher of the Laboratory for the introduction and selection of ornamental plants of Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus V. V. Gayshun.

Список использованных источников

1. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia* section Moutan) yellow flowers / C. Li [et al.] // J. Agricult. Food Chem. – 2009. – Vol. 57, N 18. – P. 8496–8503. <https://doi.org/10.1021/jf902103b>
2. Кутровская, М. Н. О влиянии метеорологических факторов на фенологическое развитие древовидных пионов (*Paeonia suffruticosa* Andr.) на Южном берегу Крыма / М. Н. Кутровская, С. П. Корсакова // Бюл. Никитск. бот. сада. – 2006. – Вып. 93. – С. 28–32.

3. Transcriptomic analysis of *Paeonia delavayi* wild population flowers to identify differentially expressed genes involved in purple-red and yellow petal pigmentation / Q. Q. Shi [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 8. – P. e0135038. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135038>
4. Stern, F. C. A study of the genus *Paeonia* / F. C. Stern. – Royal Horticultural Society in London, 1946. – 274 p.
5. Halda, J. J. The genus *Paeonia* / J. J. Halda, J. W. Waddick. – Portland : Timber Press, 2004. – 226 p.
6. Виды рода *Paeonia* в условиях урбанизированной среды и перспективы использования их в современном градостроительстве / В. Ю. Мельников, К. Г. Ткаченко // Урбоэко-системы: проблемы и перспективы развития: материалы 5-й междунар. науч.-практ. конф. (Ишим, 25–26 марта 2010 г.) / отв. ред. Н. Н. Никитина. – Ишим, 2010. – С. 97–98.
7. Zhao, D. Q. Recent advances on the development and regulation of flower color in ornamental plants / D. Q. Zhao, J. Tao // Front. Plant Sci. – 2015. – Vol. 6. – Art. 261. – P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00261>
8. Phytochemical variation among the traditional Chinese medicine Mu Dan Pi from *Paeonia suffruticosa* (tree peony) / S.-S. Li [et al.] // Phytochemistry. – 2018. – Vol. 146. – P. 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.11.008>
9. Platelet anti-aggregatory and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa* / Y. K. Koo [et al.] // Pharmazie. – 2010. – Vol. 65, N 8. – P. 624–628.
10. Determination of chemical variability of phenolic and monoterpene glycosides in the seeds of *Paeonia* species using HPLC and profiling analysis / C. He [et al.] // Food Chem. – 2013. – Vol. 138, N 4. – P. 2108–2114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.049>
11. Discovery of potent *in vitro*, neuroprotective effect of the seed extracts from seven *Paeonia* L. (peony) taxa and their fatty acid composition / D. Sevim [et al.] // Industrial Crops Products. – 2013. – Vol. 49, N 8. – P. 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.001>
12. Chemical profile and antioxidant activity of the oil from peony seeds (*Paeonia suffruticosa* Andr.) / Xin Yang [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longevity. – 2017. – Vol. 2017. – Art. ID 1207139. <https://doi.org/10.1155/2017/9164905>
13. Zhou, L. Tree peony flower and diet therapy / L. Zhou // World Cuisine. – 2001. – Vol. 3. – P. 39.
14. Isolation and purification of four flavonoid constituents from the flowers of *Paeonia suffruticosa* by high-speed counter-current chromatography / X. Wang [et al.] // J. Chromatogr. A. – 2005. – Vol. 1075, N 1–2. – P. 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.04.017>
15. Screening of a polar extract of *Paeonia rockii*: composition and antioxidant and antifungal activities / P. Picerno [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2011. – Vol. 138, N 3. – P. 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.056>
16. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components / J. Shi [et al.] // LWT – Food Sci. Technol. – 2009. – Vol. 42, N 2. – P. 477–482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.09.008>
17. Molecular mechanism of preventive effect of peony root extract on neuron damage / K. Sunaga [et al.] // J. Herbal Pharmacother. – 2004. – Vol. 4, N 1. – P. 9–20. https://doi.org/10.1080/j157v04n01_02
18. Ameliorative effects of paeoniflorin, a major constituent of peony root, on adenosine A1 receptor-mediated impairment of passive avoidance performance and long-term potentiation in the hippocampus / K. Tabata [et al.] // Biol. Pharm. Bull. – 2001. – Vol. 24, N 5. – P. 496–500. <https://doi.org/10.1248/bpb.24.496>
19. Baytop, T. Türkiye'de bitkiler ile tedavi, geçmişte ve bugün [Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present)] / T. Baytop. – 2nd ed. – Istanbul : Nobel Tıp Kitabevleri, 1999. – 480 p.
20. Гайшун, В. В. Пион древовидный (*Paeonia suffruticosa* Andr.) в условиях Беларуси / В. В. Гайшун // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира : материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 85-летию Центр. бот. сада Нац. акад. наук Беларуси (г. Минск, 6–8 июня 2017 г.) : в 2 ч. / Нац. акад. наук Беларуси; Центр. бот. сад ; редкол. : В. В. Титок [и др.]. – Минск : Медисонт, 2017. – Ч. 1. – С. 52–54.
21. Чистова, Ю. И. Количественное определение суммы гидрокси-коричных кислот в экстракте сбора одуванчика лекарственного травы и лопуха большого листа сухом / Ю. И. Чистова // Вестн. Смоленск. гос. мед. акад. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 170–176.
22. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.) / M. Wang [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol. 51, N 3. – P. 601–608. <https://doi.org/10.1021/jf020792b>
23. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 1999. – Vol. 26, N 9–10. – P. 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
24. Государственная фармакопея Российской Федерации. – 13-е изд. – М., 2015. – Т. 1. – 1470 с. – Режим доступа: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1.html/HTML/#1/z. – Дата доступа: 31.01.2019.
25. Антиоксидантная и антирадикальная активность *in vitro* экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., собранной в различные фазы развития / Е. М. Мальцева [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2017. – Т. 16, № 22. – С. 32–38.

References

1. Li C., Du H., Wang L., Shu Q., Zheng Y., Xu Y., Zhang J., Zhang J., Yang R., Ge Y. Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (*Paeonia* section Moutan) yellow flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, vol. 57, no. 18, pp. 8496–8503. <https://doi.org/10.1021/jf902103b>
2. Kutrovskaya M. N., Korsakov S. P. On the influence of meteorological factors on the phenological development of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) on the southern coast of Crimea. *Byulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* [Bulletin of the Nikitsky Botanical Garden], 2006, iss. 93, pp. 28–32 (in Russian).

3. Shi Q. Q., Zhou L., Wang Y., Li K., Zheng B. Q., Miao K. Transcriptomic analysis of *Paeonia delavayi* wild population flowers to identify differentially expressed genes involved in purple-red and yellow petal pigmentation. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 8, p. e0135038. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135038>
4. Stern F. C. A study of the genus *Paeonia*. – London, 1946. – 274 p.
5. Halda J. J., Waddick J. W. *The genus Paeonia*. Portland, Timber Press Publ., 2004. 226 p.
6. Mel'nikov V. Yu., Tkachenko K. G. Species of the genus *Paeonia* in an urbanized environment and the prospects for their use in modern urban planning. *Urboekosistemy: problemy i perspektivy razvitiya: materialy 5-i mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Ishim, 25–26 marta 2010 goda)* [Urboecosystems: problems and development prospects: materials of the 5th International scientific and practical conference (Ishim, March 25–26, 2010)]. Ishim, 2010, pp. 97–98 (in Russian).
7. Zhao D. Q., Tao J. Recent advances on the development and regulation of flower color in ornamental plants. *Frontiers in Plant Science*, 2015, vol. 6, p. 261. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00261>
8. Li S.-S., Wu Q., Yin D.-D., Feng C.-Y., Liu Z.-A., Wang L.-S. Phytochemical variation among the traditional Chinese medicine Mu Dan Pi from *Paeonia suffruticosa* (tree peony). *Phytochemistry*, 2018, vol. 146, pp. 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.11.008>
9. Koo Y. K., Kim J. M., Koo J. Y., Kang S. S., Bae K. H., Kim Y. S., Chung Jin-Ho, Yun-Choi H. S. Platelet anti-aggregatory and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa*. *Pharmazie*, 2010, vol. 65, no. 8, pp. 624–628.
10. He C., Peng Y., Xiao W., Liu H., Xiao P. G. Determination of chemical variability of phenolic and monoterpene glycosides in the seeds of *Paeonia* species using HPLC and profiling analysis. *Food Chemistry*, 2018, vol. 138, no. 4, pp. 2108–2114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.049>
11. Sevim D., Senol F. S., Gulpinar A. R., Orhan I. E., Kaya E., Kartal M., Sener B. Discovery of potent *in vitro*, neuro-protective effect of the seed extracts from seven *Paeonia* L. (peony) taxa and their fatty acid composition. *Industrial Crops and Products*, 2013, vol. 49, no. 8, pp. 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.001>
12. Xin Yang, Di Zhang, Li-Min Song, Qian Xu, Hong Li, Hui Xu. Chemical profile and antioxidant activity of the oil from peony seeds (*Paeonia suffruticosa* Andr.). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, vol. 2017, art. ID 1207139. <https://doi.org/10.1155/2017/9164905>
13. Zhou L. Tree peony flower and diet therapy. *World Cuisine*, 2001, vol. 3, p. 39.
14. Wang X., Cheng C. G., Sun Q. L., Li F. W., Liu J. H., Zheng C. C. Isolation and purification of four flavonoid constituents from the flowers of *Paeonia suffruticosa* by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2005, vol. 1075, no. 1–2, pp. 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.04.017>
15. Picerno P., Mencherini T., Sansone F., Gaudio P. D., Granata I., Porta A., Aquino R. P. Screening of a polar extract of *Paeonia rockii*: composition and antioxidant and antifungal activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, vol. 138, no. 3, pp. 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.056>
16. Shi J. Y., Gong, J. Y., Liu J. E., Wu X. Q., Zhang Y. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. *LWT – Food Science and Technology*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 477–482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.09.008>
17. Sunaga K., Sugaya E., Kajiwaru K., Tsuda T., Sugaya A., Kimura M. Molecular mechanism of preventive effect of peony root extract on neuron damage. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 2004, vol. 4, no. 1, pp. 9–20. https://doi.org/10.1080/j157v04n01_02
18. Tabata K., Matsumoto K., Murakami Y., Watanabe H. Ameliorative effects of paeoniflorin, a major constituent of peony root, on adenosine A1 receptor-mediated impairment of passive avoidance performance and long-term potentiation in the hippocampus. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2001, vol. 24, no. 5, pp. 496–500. <https://doi.org/10.1248/bpb.24.496>
19. Baytop T. *Türkiyede bitkiler ile tedavi, geçmişte ve bugün [Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present)]*. 2nd ed. Istanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1999. 480 p.
20. Gaishun V. V. Tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) in the conditions of Belarus. *Rol' botanicheskikh sadov i dendrariy v sokhranении, izuchenii i istoichivom ispol'zovanii raznoobraziya rastitel'nogo mira: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 85-letiyu Tsentral'nogo botanicheskogo sada Natsional'noi akademii nauk Belarusi (Minsk, 6–8 iyunya 2017 goda). Chast' I* [The role of botanical gardens and arboreta in the conservation, study and sustainable use of plant diversity: materials of the International scientific conference dedicated to the 85th anniversary of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (Minsk, June 6–8, 2017). Pt. I]. Minsk, 2017, pp. 52–54 (in Russian).
21. Chistova Yu. I., Quantitative determination of the sum of hydroxycinnamic acids in the dry extract of dandelion herb and large burdock leaf specie. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj meditsinskoi akademii* [Bulletin of the Smolensk State Medical Academy], 2019, vol. 18, no. 1, pp. 170–176 (in Russian).
22. Wang M., Simon J. E., Aviles I. F., He K., Zheng Q., Tadmor Y. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, vol. 51, no. 3, pp. 601–608. <https://doi.org/10.1021/jf020792b>
23. Re R., Pellegrinia N., Proteggente A., Pannalaa A., Yanga M., Rice-Evansa C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
24. *Russian Federation State Pharmacopoeia. 13th ed.* Moscow, 2015, vol. 1, 1470 p. Available at: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1_html/HTML/#1/z (accessed 31.01.2019) (in Russian).
25. Mal'tseva E. M., Egorova N. O., Egorova I. N., Mukhamadiyarov R. A. Antioxidant and antiradical activity *in vitro* of herb extracts of *Sanguisorba officinalis* L., gathered in various development stages. *Meditsina v Kuzbasse* [Medicine in Kuzbass], 2017, vol. 16, no. 22, pp. 32–38 (in Russian).

Информация об авторах

Деева Алла Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alladzeeva@gmail.com

Войцеховская Елена Анатольевна – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vazek@list.ru

Спиридович Елена Владимировна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.spirydovich@gmail.com

Решетников Владимир Николаевич – академик, доктор биол. наук, профессор, заведующий отделом. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Information about the authors

Alla M. Deeva – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alladzeeva@gmail.com

Alena A. Voizechovskaia – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vazek@list.ru

Alena V. Spiridovich – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.spirydovich@gmail.com

Vladimir N. Reshetnikov – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 575.234.2:633.14

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-215-222>

Поступила в редакцию 07.09.2020

Received 07.09.2020

В. С. Мандрусова, И. С. Гордей, О. М. Люсиков, В. Е. Шимко, И. А. Гордей

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОФОНДА ОЗИМОЙ РЖИ *SECALE CEREALE* L. РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ С ПРИМЕНЕНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ

Аннотация. В настоящей работе с использованием 15 микросателлитных (SSR) маркеров исследовано генетическое разнообразие современного генофонда селекционных образцов озимой ржи (*S. cereale* L.) Республики Беларусь с целью разработки дивергентных комбинаций скрещивания при селекции на гетерозис.

Показано, что сформированный набор SSR-маркеров высокоэффективен – индекс информативности (PIC) варьировался от 0,50 до 0,83 и составил в среднем 0,72. Выявлены наиболее эффективные микросателлитные маркеры (SCM28, SCM43, SCM101 и SCM102), которые могут успешно использоваться для изучения генетического разнообразия ржи. Установлено, что современный генофонд озимой ржи Республики Беларусь характеризуется широким генетическим разнообразием (межпопуляционной изменчивостью) – все коллекционные образцы имеют уникальный аллельный состав изученных микросателлитных локусов. На основе результатов исследований построена дендрограмма иерархической кластеризации, позволившая определить наиболее генетически дивергентные комбинации скрещиваний.

Полученные данные могут быть использованы в практической селекции ржи на гетерозис для разработки эффективной схемы создания новых сортов и гибридов.

Ключевые слова: рожь, микросателлитные маркеры, генетическое разнообразие, аллель, дивергентность

Для цитирования: Изучение генофонда озимой ржи *Secale cereale* L. Республики Беларусь с применением микросателлитных маркеров / В. С. Мандрусова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 215–222. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-215-222>

Victoria S. Mandrusova, Igor S. Gordej, Oleg M. Lyusikov, Victoria E. Shimko, Ivan A. Gordej

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

STUDY OF THE GENE POOL OF THE WINTER RYE *SECALE CEREALE* L. OF THE REPUBLIC OF BELARUS USING MICROSATELLITE MARKERS

Abstract. In this work, the genetic diversity of the modern gene pool of the winter rye (*S. cereale* L.) of the Republic of Belarus from 20 actual breeding samples was investigated using 15 microsatellite (SSR) markers to develop divergent crossing combinations in breeding for heterosis.

It was shown that the formed set of SSR markers is highly effective – the informational content index (PIC) varied from 0.50 to 0.83 and averaged 0.72. The most effective microsatellite markers (SCM28, SCM43, SCM101 and SCM102) were identified and can be successfully used to study the genetic diversity of rye. It has been established that the modern gene pool of the winter rye of the Republic of Belarus is generally characterized by fairly wide genetic diversity (interpopulation variability) – all collection samples are characterized by a unique allelic composition of the studied microsatellite loci. Based on investigation results, a hierarchical clustering dendrogram was constructed, which made it possible to determine the most genetically divergent combinations of crosses.

The information obtained can be used for the development of an effective scheme allowing to develop new varieties and hybrids in the practical breeding of rye for heterosis.

Keywords: rye, microsatellite markers, genetic diversity, allele, divergence

For citation: Mandrusova V. S., Gordej I. S., Lyusikov O. M., Shimko V. E., Gordej I. A. Study of the gene pool of the winter rye *Secale cereale* L. of the Republic of Belarus using microsatellite markers. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 215–222 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-215-222>

Введение. Рожь *Secale cereale* L. ($2n = 14$ и $2n = 28$) является одной из важнейших зерновых культур, возделываемых в Восточной и Северной Европе. Рожь характеризуется способностью давать высокие урожаи при выращивании в условиях стресса (низкие температуры, засуха и низкое плодородие почв) [1]. Наличие устойчивых к болезням сортов снижает потребность в интенсивной химической защите этой культуры.

По питательной ценности рожь превосходит другие зерновые культуры [2]. Сфера применения озимой ржи постоянно расширяется, в том числе в плане использования на продовольственные и кормовые цели (хлеб, спирт, солод), а также для переработки на биоэтанол и биогаз, что обуславливает необходимость создания сортов целевого назначения [3]. В то же время в Беларуси происходит ежегодное сокращение посевных площадей под этой культурой. Сегодня рожь выращивается на площади всего около 300 тыс. га и дает ежегодно 0,7–0,8 млн т зерна, хотя в 1990-х годах посевные площади под этой культурой в нашей стране доходили до 900 тыс. га [4]. Селекция озимой ржи в Беларуси заключается в получении популяционных диплоидных и тетраплоидных сортов. В процессе работы с рожью селекционерами решаются следующие задачи: повышение продуктивности и устойчивости к полеганию, болезням, вредителям; увеличение содержания белка; повышение хлебопекарных и кормовых качеств.

Создание конкурентоспособных сортов ржи требует разнообразного исходного материала, поэтому важной задачей является изучение ее генетического разнообразия для эффективного ведения селекционного процесса. Рожь как аллогамная культура характеризуется возможностью давать гетерозисное потомство при гибридизации генетически дивергентных (отдаленных) форм [5]. Выявление таких дивергентных генотипов исключительно по морфобиологическим признакам в полевых условиях недостаточно надежно и трудоемко. За последние десятилетия накоплен большой теоретический и практический опыт использования ДНК-маркеров в генетике и селекции растений как вспомогательный метод скрининга генофонда исходного материала при создании коммерческих сортов и селекционных линий различных сельскохозяйственных культур [6]. Эффективным и технологичным методом ДНК-скрининга является анализ вариабельности микросателлитных локусов/маркеров (SSR – simple sequence repeat), позволяющий в кратчайшие сроки изучить генетическое разнообразие исходного материала и выявить наиболее генетически дивергентные формы. Кроме того, он позволяет устанавливать филогенетические связи, проводить идентификацию и паспортизацию сортов и гибридов культурных растений [7]. SSR-маркеры в настоящее время широко применяются исследователями на различных культурах, в том числе на ржи [8–11].

Цель исследований – изучение генетического разнообразия современного генофонда озимой ржи *Secale cereale* L. Республики Беларусь с применением микросателлитных маркеров и разработка дивергентных комбинаций скрещивания при селекции на гетерозис.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследований служили 20 образцов диплоидной ржи *S. cereale* L. различного селекционного происхождения: 6 сортов белорусской селекции (Зарница, Павлинка, Офелия, Алькора, Бирюза, Голубка), 3 сорта российской селекции (Чулпан 4, Московская, Солнышко), 3 сорта польской селекции (Walet, Negro, Motto), 3 сорта латвийской селекции (Кауро, Otello, Millenium), 5 селекционных сортообразцов из крупнейшего белорусского селекцентра РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» (ТПР-5 × Голубка, Walet × Зарница, Люта × Московская, Юбилейная × ПД-5, Фаленская × (СК × Зубровка) × КП-97). Данная коллекция включает все лучшие образцы озимой ржи крупнейшего селекционного центра страны – РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», которые были отобраны на основании предварительной оценки по хозяйственно-ценным признакам в коллекционном питомнике.

Зерновки каждого образца (по 20 шт.) предварительно проращивали в чашках Петри в течение 7 дней до получения проростков стадии первого листа. Для выделения и очистки тотальной ДНК использовали готовый набор реагентов Genomic DNA Purification Kit. Работу проводили по прилагаемому к набору протоколу. Определение концентрации и чистоты выделенной ДНК проводили на спектрофотометре. Концентрацию ДНК всех выделенных генотипов (проростков) каждого образца выравнивали. По каждому отдельному образцу готовили пул ДНК путем смешивания в одной пробирке равных аликвот ДНК 20 отдельных генотипов (проростков). Для анализа коллекции по микросателлитным локусам использовали набор из 15 SSR-маркеров, диспергированных по всем 7 хромосомам ржи (1R-7R) и показавших высокую информативность в других исследованиях [7, 12]. ПЦР проводили по стандартной методике с температурой отжига праймеров 55–60 °С в амплификаторе C1000 Touch Thermal Cycler [13]. Для опреде-

ления качества амплификации продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза, гели документировали в системе Bio-Rad GelDoc. Фрагментный анализ проводили на генетическом анализаторе ABI 3500. Для обработки данных фрагментного анализа использовали программу GeneMapper 5.0. Показатели информативности используемых SSR-маркеров (PIC – индекс информативности, N_e – эффективное число аллелей) определяли по Ю. В. Чеснокову в MS Excel 2016 [14]. Для кластеризации коллекционных образцов использовали метод UPGMA и проводили анализ главных компонент (PCA) (коэффициент Жаккара) с помощью программы DARwin 6.0 (Perrier, Jacquemoud-Collet, 2006) [15]. Частоты отдельных аллелей SSR-локусов вычисляли при помощи MS Excel 2016 и Origin 7.5.

Результаты и их обсуждение. Используемый в настоящем исследовании набор SSR-маркеров дал специфические и хорошо воспроизводимые фрагменты ДНК. В результате SSR-анализа рабочей коллекции из 20 селекционных образцов ржи было выявлено 69 аллелей в 15 микросателлитных локусах, причем по 59 из них образцы анализируемой коллекции оказались полиморфными. Количество аллелей в локусе зависело от конкретного генотипа или маркера и варьировалось от 2 до 8 при среднем значении 4,6 (см. таблицу).

Характеристика аллельного состава SSR-локусов
Characterization allelic composition of SSR loci

SSR-маркер	Хромосомная локализация	Тип повтора	Размер аллеля, п. о.	L	N_e	PIC
SCM9	1R	GT	208–224	5	3,85	0,74
SCM28	6R	GT	121–143	6	5,00	0,80
SCM40	7R	GT	129–241	5	4,17	0,76
SCM43	2R	GT	92–112	7	5,88	0,83
SCM63	7R	CCG	242–248	3	2,94	0,66
SCM69	2R	CA	137–195	3	2,38	0,58
SCM73	2R	CCT	220–229	4	3,85	0,74
SCM86	7R	GT	86–118	6	4,35	0,77
SCM101	4R	CT	171–193	8	5,26	0,81
SCM102	3R	AG	112–228	6	5,56	0,82
SCM109	5R	GT	95–117	4	4,00	0,75
SCM138	5R	AC	172–176	3	2,94	0,66
SCM139	4R	ATCT	132–144	4	3,57	0,72
SCM162	3R	CCG	188–194	3	3,03	0,67
SCM304	6R	CA	227–231	2	2,00	0,50
Среднее			–	4,6	3,92	0,72
Сумма			–	69	58,78	–

П р и м е ч а н и е. L – общее количество аллелей на праймер; PIC – индекс информативности; N_e – эффективное число аллелей.

Размеры ПЦР-продуктов составляли от 92 до 248 п. о. Эффективное число аллелей (N_e) используемого набора маркеров варьировалось от 2,00 (SCM304) до 5,88 (SCM43) и составляло в среднем 3,92. Величина PIC варьировалась от 0,50 до 0,83 в зависимости от маркера. Наиболее информативным оказался SSR-маркер SCM43, наименее информативным – SCM304. Индекс информативности маркера тесно коррелировал с количеством выявляемых аллелей ($r = +0,87$).

Частота встречаемости минорных аллелей (MAF – minor alleles frequencies) составила от 1 до 53 %. Наблюдаемые частоты минорных аллелей были сдвинуты к MAF = 26–31 % (рис. 1). На долю редких (MAF $\leq$ 5 %) пришлось порядка 11,6 % аллелей от их общего числа. Среди 20 проанализированных образцов ржи выявлено 8 редких аллелей в локусах SCM 9 (224 п. о.), SCM 28 (131 п. о.), SCM 40 (209 п. о.), SCM 43 (100 п. о.), SCM 86 (118 п. о.), SCM 101 (171, 191, 193 п. о.). Данные аллели обнаружены в 14 из 20 образцов: Московская, Walet $\times$ Зарница, Юбилейная $\times$ ПД-5, Офелия, Фаленская $\times$ (СК $\times$ Зубровка) $\times$ КП-97, Алькора, Каупо, Люта $\times$ Московская, Зарница, ТПР $\times$ Голубка, Павлинка, Чулпан 4, Otello, Walet. Наличие редких аллелей свидетельствует о возможно общей предковой основе этих образцов.

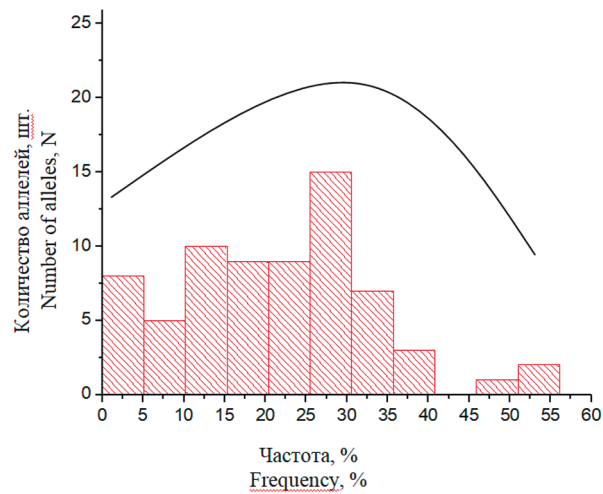


Рис. 1. Распределение частот 69 аллелей (по всем SSR локусам)

Fig. 1. Frequency distribution of 69 alleles (for all SSR loci)

Используемого набора из 15 SSR-маркеров оказалось достаточно, чтобы различить все образцы анализируемой коллекции, т. е. каждый селекционный образец характеризовался уникальным аллельным составом по всем изученным микросателлитным локусам. Уникальный аллельный состав всех коллекционных образцов и достаточно высокая доля редких аллелей (11,6 %) свидетельствуют о широкой межпопуляционной изменчивости изучаемой коллекции.

При изучении генетического разнообразия образцов диплоидной ржи на основе полиморфизма SSR-маркеров построена матрица генетических дистанций (GD – genetic distances). Величина GD варьировалась от 0,17 (Московская – Бирюза) до 0,58 (Люта × Московская – Чулпан и Walet × Зарница – Otello) при среднем значении 0,39.

На основе матрицы генетических дистанций проведен кластерный анализ и построена дендрограмма, отображающая генетическую дивергентность проанализированных образцов. В целом коллекционные образцы одного селекционного происхождения тесно кластеризованы на дендрограмме (рис. 2).

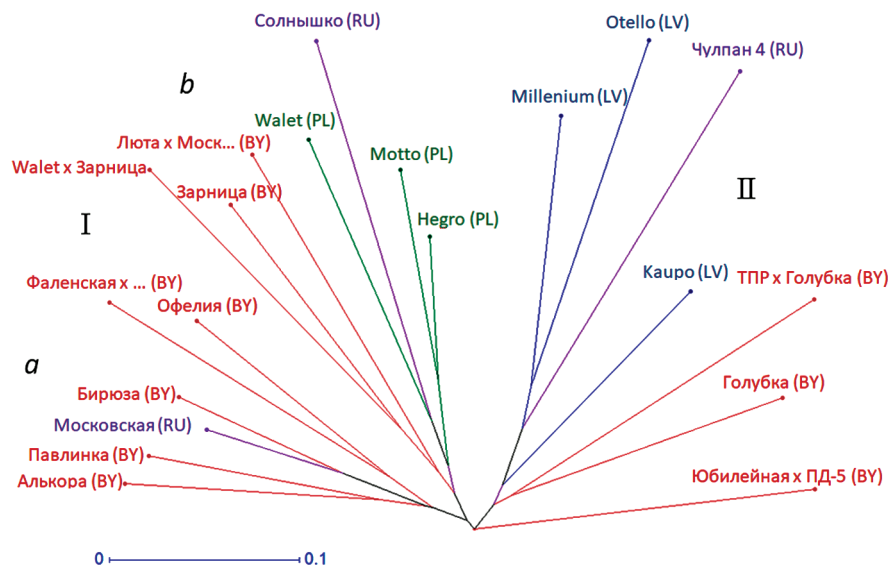


Рис. 2. Иерархическая дендрограмма коллекционных образцов ржи. Здесь и на рис. 3: BY – сорта белорусской селекции; RU – сорта российской селекции; LV – сорта латвийской селекции; PL – сорта польской селекции

Fig. 2. Hierarchical dendrogram of collection rye samples: BY – varieties of Belarusian selection; RU – varieties of Russian selection; LV – varieties of Latvian selection; PL – varieties of Polish selection

Генотипы групіруюцца ў два кластэра – I і II. Кластер I складаецца з 13 каллекцыйных асобаў: Алькора, Павлинка, Масковская, Бярыюза, Офелія, Зарніца, Солнышко, Walet, Motto, Negro, Люта × Масковская, Walet × Зарніца і Фаленская × (СК × Зубровка) × КП-97. Кластер II ўключае 6 асобаў: Чулпан 4, Голубка, Millenium, Otello, Кауро і ТПР × Голубка. Сортообразец Юбілейная × ПД-5 групіраваўся асобна ад абодвух кластэраў (рис. 2).

Кластер I адметліва дзеліцца на два субкластэра – *a* і *b*. Субкластэр *a* складаюць сорты (сортаобразцы) беларускай селекцыі (Алькора, Павлинка, Бярыюза, Офелія і Фаленская × (СК × Зубровка) × КП-97). У гэты субкластэр трапляе толькі адзін сорт рускай селекцыі – Масковская. Субкластэр *b* складаецца ў асноўным з сартоў (сортаобразцаў) замежнай селекцыі – Солнышко, Negro, Motto, Walet і Люта × Масковская. У гэты ж субкластэр трапляе сорт Зарніца і створаны на яго аснове сортаобразец Walet × Зарніца беларускай селекцыі. Большая частка сартоў (сортаобразцаў) беларускай селекцыі трапляе ў кластер I і толькі два асобаў (Голубка і ТПР × Голубка) – ў кластер II. Сярод падкрэсліваецца, што ўсе ўключаныя ў каллекцыю сорты польскай селекцыі (Negro, Motto і Walet) цесна групіруюцца і трапляюць у адзін субкластэр *b* (рис. 2). Сорты латвійскай селекцыі (Кауро, Millenium, Otello) сгрупіраваны ў кластэры II.

Сярод адзначыць, што сорты і створаны на іх аснове сортаобразцы таксама цесна кластэрызаваны на дэндрограме. Так, сорты Зарніца і Голубка адрозніваюцца толькі адным крокам іерархіі ад створаных на іх аснове сортаобразцаў Walet × Зарніца і ТПР × Голубка адпаведна, што тлумачыцца агульнай генетычнай асновай паходжання (рис. 2). Ісключэнне складаюць сорт Масковская і створаны на яго аснове гібрыд Люта × Масковская, сгрупіраваныя ў розных субкластэрах, але ў адным кластэры – I. Гэты факт сведчыць аб эфектыўнасці выкарыстання SSR-аналіза ў ідэнтыфікацыі паходжання таго ці іншага сорту (сортаобразца).

Як відаць з даных дэндрограмы, некаторыя асобаў аднаго экалагічна-геаграфічнага паходжання цесна групіруюцца з асобаўмі іншага экалагічна-геаграфічнага паходжання. Так, сорт Масковская рускай селекцыі сгрупіраваны ў субкластэры *a* з сортамі беларускай селекцыі, а сорт Зарніца беларускай селекцыі групіруецца ў субкластэры *b* з сортамі польскай селекцыі. Гэты факт можна тлумачыць двума асноўнымі прычынамі:

1) агульнай генетычнай асновай стварэння гэтых сартоў у выніку актыўнага абмену генофондам пачатковага матэрыяла паміж вядучымі селекцыйнымі ўстановамі асноўных еўрапейскіх краін-вытворцаў ржы (Расія, Германія, Польша, Беларусь);

2) аллогамнай прыродай ржы, што ў сваю ачэрэд ускладняе падтрыманне чыстоты асобных папуляцый.

Выкарыстанне метаду галоўных кампанент пацвердзіла, што каллекцыйныя асобаў кластэрызуюцца ў РСА-прасторстве ў адпаведнасці з іх селекцыйным паходжанням (рис. 3). Так, асобаў беларускай селекцыі кластэрызуюцца ў асноўным у верхняй правай частцы РСА-прасторства, асобаў польскай селекцыі складаюць асобную групу падобія ў левай частцы, асобаў латвійскай селекцыі – у ніжняй частцы, асобаў рускай селекцыі дыспергіраваны па ўсёй вобласці РСА-прасторства. У тое ж час вынікі аналізу галоўных кампанент у цэлым паказалі моцную дысперсію каллекцыйных асобаў у РСА-прасторстве (рис. 3), што таксама сведчыць аб дастаткова шырокім міжпапуляцыйным поліморфізме даследуемай каллекцыі.

Следавальна, ўключаныя ў нашы даследаванні сорты кластэрызуюцца ў асноўным у адпаведнасці з іх селекцыйным паходжанням. Ісключэнне складаюць сорты рускай селекцыі, дыспергіраваныя ў розных кластэрах (субкластэрах). Гэты факт можна тлумачыць рознай генетычнай асновай стварэння гэтых сартоў і экалагічна-геаграфічнай аддаленасцю іх устаноў-арыгіналяў (Масковская – Маскоўскі НІІСХ «Немчыновка», Солнышко – НІІСХ Юго-Востока, Чулпан – Башкірскі НІІСХ). Уключаныя ў аналіз сортаобразцы РУП «Навуна-практычны цэнтр НАН Беларусі па земледелію» таксама дыспергіраваны па розным кластэрам (субкластэрам), што звязана з іх генетычнай аддаленасцю, атрыманай у выніку дывергентных скрещиваний.

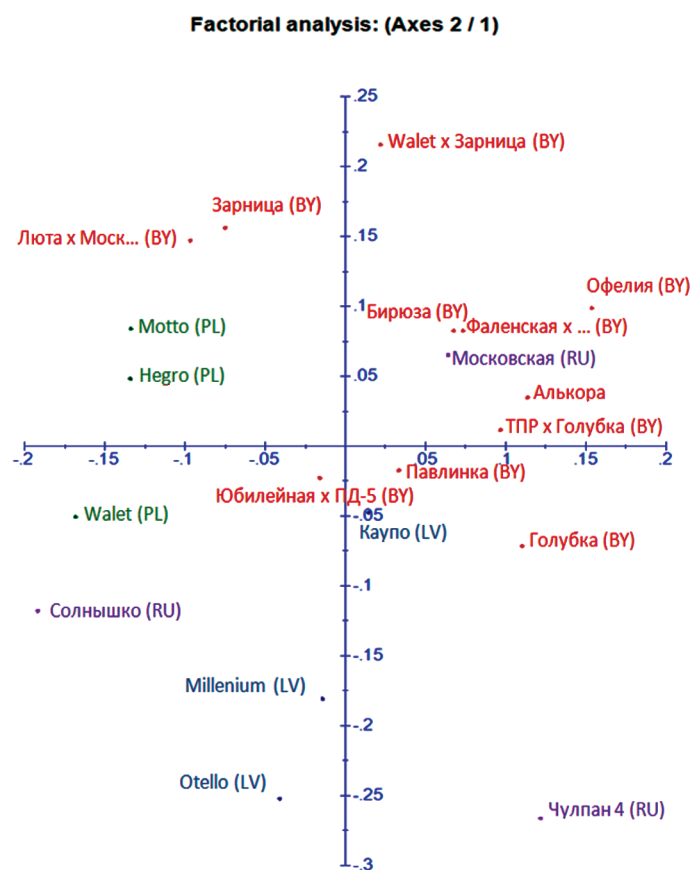


Рис. 3. Дисперсия коллекционных образцов ржи в PCA-пространстве

Fig. 3. Dispersion of collection rye samples in PCA space

Таким образом, результаты исследований на основе анализа аллельного состава микросателлитных локусов показали, что сформированная коллекция из лучших современных образцов ржи в целом характеризуется широким генетическим разнообразием (межпопуляционной изменчивостью) – каждый коллекционный образец характеризуется уникальным аллельным составом 15 изученных микросателлитных локусов. Это связано с различным селекционным происхождением коллекционных образцов (Беларусь, Россия, Польша, Латвия), а также с аллогамной природой озимой ржи. Высокое разнообразие экспериментальных форм свидетельствует о широкой генетической основе изученного генофонда ржи.

Заключение. Изучение генетического разнообразия современного генофонда ржи Республики Беларусь из 20 лучших селекционных образцов с использованием 15 микросателлитных (SSR) маркеров показало, что сформированный набор SSR-маркеров высокоэффективен для анализа межпопуляционного полиморфизма у ржи – PIC используемой маркерной системы составил 0,72. Идентифицированы наиболее эффективные микросателлитные маркеры (SCM28, SCM43, SCM101 и SCM102), которые могут успешно использоваться для изучения генетического разнообразия ржи. Выявлены дивергентные комбинации скрещиваний для селекции на гетерозис – в гибридизацию необходимо включать образцы, соответствующие двум разным кластерам (субкластерам) иерархической дендрограммы. Каждый селекционный образец характеризуется уникальным аллельным составом изученных микросателлитных локусов, что свидетельствует о широком генетическом разнообразии современного генофонда ржи Республики Беларусь. Включение изученного генофонда в селекционный процесс с использованием дивергентных комбинаций скрещивания позволит получить достаточное количество генетически разнородного исходного материала и создать на его основе новые конкурентоспособные популяционные сорта и гибриды ржи.

Список использованных источников

1. Урбан, Э. П. Озимая рожь в Беларуси: селекция, семеноводство, технология возделывания / Э. П. Урбан. – Минск : Беларус. навука, 2009. – 269 с.
2. Кобылянский, В. Д. Теоретические основы селекции зернофуражной ржи с низким содержанием водорастворимых пентозанов / В. Д. Кобылянский, О. В. Солодухина // Сельскохозяйств. биология. – 2013. – № 2. – С. 31–39.
3. Гончаренко, А. А. Новые направления в селекции озимой ржи на целевое использование / А. А. Гончаренко // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2016. – Т. 2, № 18. – С. 25–32.
4. Привалов, Ф. И. Достижения и проблемы селекции высокопродуктивных сельскохозяйственных культур в Республике Беларусь / Ф. И. Привалов, Э. П. Урбан // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2016. – № 3. – С. 41–49.
5. Шлегель, Р. Селекция гибридных форм как стимул развития молекулярно-генетических исследований у ржи / Р. Шлегель // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 5. – С. 589–603.
6. Леонова, И. Н. Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов / И. Н. Леонова // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 314–325.
7. Chikmawati, T. Rye (*Secale cereale* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) simple sequence repeat variation within *Secale* spp. (Poaceae) / T. Chikmawati, J. Miftahudin, J. P. Gustafson // HAYATI J. Biosci. – 2013. – Vol. 20, N 4. – P. 163–170. <https://doi.org/10.4308/hjb.20.4.163>
8. Генотипирование сортов мягкой пшеницы разных регионов России / И. Г. Адонина [и др.] // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, № 1. – С. 44–50.
9. Информативные EST-SSR-маркеры для типирования и внутривидовой дифференциации *Brassica oleracea* var. *capitata* L. / М. Н. Шаптуренко [и др.] // Вавилов. журн. генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, № 1. – С. 51–56.
10. Genetic diversity and phylogenetic relationships in the rye genus *Secale* L. (rye) based on *Secale cereale* microsatellite markers / H. I. Shang [et al.] // Genet. Mol. Biol. – 2006. – Vol. 29, N 4. – P. 685–691. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000400018>
11. Targońska, M. Assessment of genetic diversity in *secale cereale* based on *ssr* markers / M. Targońska, H. Bolibok-Brągoszewska, M. Rakoczy-Trojanowska // Plant Mol. Biol. Rep. – 2016. – Vol. 34, N 1. – P. 37–51. <https://doi.org/10.1007/s11005-015-0896-4>
12. Saal, B. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.) / B. Saal, G. Wricke // Genome. – 1999. – Vol. 42, N 5. – P. 964–972. <https://doi.org/10.1139/g99-052>
13. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов, О. Ю. Баранов, Е. В. Ворopaев. – Минск : Юнипол, 2007. – 176 с.
14. Чесноков, Ю. В. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия / Ю. В. Чесноков, А. М. Артемьева // Сельскохозяйств. биология. – 2015. – Т. 50, № 5. – С. 571–578.
15. Perrier, X. Darwin software (2006) [Electronic resource] / X. Perrier, J. P. Jacquemoud-Collet. – Mode of access: <http://darwin.cirad.fr/darwin>. – Date of access: 19.02.2020.

References

1. Urban E. P. *Winter rye in Belarus: selection, seed production, cultivation technology*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2009. 269 p. (in Russian).
2. Kobylyanskii V. D., Solodukhina O. V. The theoretical basis of grain fodder rye breeding for low water soluble pentosans. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural biology], 2013, no. 2, pp. 31–39 (in Russian).
3. Goncharenko A. A. New directions in selection of a winter rye on target use. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury* [Legumes and grain crops], 2016, vol. 2, no. 18, pp. 25–32 (in Russian).
4. Privalov F. I., Urban E. P. Achievements and problems of high yield crops breeding in the Republic of Belarus. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya agrarnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian series*, 2016, no. 3, pp. 41–49 (in Russian).
5. Shlegel' R. Hybrid breeding boosted molecular genetics in rye. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2015, vol. 19, no. 5, pp. 589–603 (in Russian).
6. Leonova I. N. Molecular markers: implementation in crop plant breeding for identification, introgression, and gene pyramiding. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2013, vol. 17, no. 2, pp. 314–325 (in Russian).
7. Chikmawati T., Miftahudin J., Gustafson J. P. Rye (*Secale cereale* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) simple sequence repeat variation within *Secale* spp. (Poaceae). *HAYATI Journal of Biosciences*, 2013, vol. 20, no. 4, pp. 163–170. <https://doi.org/10.4308/hjb.20.4.163>
8. Adonina I. G., Leonova I. N., Badaeva E. D., Salina E. A. Genotyping of hexaploid wheat varieties from different Russian regions. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 44–50 (in Russian).
9. Shapturenko M. N., Pechkovskaya T. V., Vakula S. I., Yakimovich A. V., Zabara Yu. M., Khotyleva L. V. Informative EST-SSR markers for genotyping and intraspecific differentiation of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 51–56 (in Russian).

10. Shang H.-I., Wei Y.-M., Wang X.-R., Zheng Y.-L. Genetic diversity and phylogenetic relationships in the rye genus *Secale* L. (rye) based on *Secale cereale* microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*, 2006, vol. 29, no. 4, pp. 685–691. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000400018>
11. Targońska M., Bolibok-Brągoszewska H., Rakoczy-Trojanowska M. Assessment of genetic diversity in *Secale cereale* based on SSR markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2016, vol. 34, no. 1, pp. 37–51. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0896-4>
12. Saal B., Wricke G. Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.). *Genome*, 1999, vol. 42, no. 5, pp. 964–972. <https://doi.org/10.1139/g99-052>
13. Padutov V. E., Baranov O. Yu., Voropaev E. V. *Molecular genetic analysis methods*. Minsk, Yunipol Publ., 2007. 176 p. (in Russian).
14. Chesnokov Yu. V., Artem'eva A. M. Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural biology*, 2015, vol. 50, no. 5, pp. 571–578 (in Russian).
15. Perrier X., Jacquemoud-Collet J. P. Darwin software (2006). Available at: <http://darwin.cirad.fr/darwin> (accessed 19.02.2020).

Информация об авторах

Мандрусова Виктория Сергеевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shinkorenko.vika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8674-4905>

Гордей Игорь Станиславович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: I_Gordej777@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1502-303X>

Люсиков Олег Михайлович – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: O.Lyusikov@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-7243-6028>

Шимко Виктория Евгеньевна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shymko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4741-5823>

Гордей Иван Андреевич – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: I.Gordej@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-8285-1583>

Information about the authors

Victoria S. Mandrusova – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shinkorenko.vika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8674-4905>

Igor S. Gordej – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: I_Gordej777@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1502-303X>

Oleg M. Lyusikov – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: O.Lyusikov@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-7243-6028>

Victoria E. Shimko – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shymko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4741-5823>

Ivan A. Gordej – D. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: I.Gordej@igc.by, <https://orcid.org/0000-0002-8285-1583>

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 582.581:581.15:575.22.015-025.25

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-223-231>

Поступила в редакцию 03.08.2020

Received 03.08.2020

Н. В. Самохвалова, А. В. Кручонок, Б. Ю. Аношенко, В. В. Титок

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ БЕЛОРУССКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ОФРИС НАСЕКОМОНОСНОЙ (*OPHRYS INSECTIFERA* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ iPBS-МАРКЕРОВ

Аннотация. Проведен анализ генетической гетерогенности двух популяций офрис насекомоносной (*Ophrys insectifera* L.), произрастающих в Лепельском районе (Березинский биосферный заповедник) и в Ушачском районе (окрестности д. Веркуды). Вид имеет I категорию охраны (CR – критическая угроза исчезновения). Результаты, полученные с помощью использования iPBS-маркеров, показали, что у популяции из д. Веркуды более высокий уровень генетической гетерогенности, чем у популяции из Березинского биосферного заповедника. Анализ молекулярной варiances (AMOVA) показал, что основная доля генетической изменчивости является внутривидовой (64 %). Определен коэффициент генетической дифференциации популяций ($G_{ST} = 0,26$). Анализ главных координат (PCoA) выявил две группы, которые совпадали с природными популяциями, и подтвердил большую генетическую гетерогенность у популяции из д. Веркуды.

Ключевые слова: молекулярные iPBS-маркеры, *Ophrys insectifera* L., ретротранспозоны, генетическое разнообразие, мобильные генетические элементы, ДНК, ПЦР, AMOVA, PCoA

Для цитирования: Оценка генетической изменчивости белорусских популяций офрис насекомоносной (*Ophrys insectifera* L.) с использованием молекулярных iPBS-маркеров / Н. В. Самохвалова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 223–231. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-223-231>

Natalia V. Samokhvalova, Alesia V. Kruchonok, Boris Yu. Anoshenko, Vladimir V. Titok

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

EVALUATION OF THE GENETIC VARIABILITY OF *OPHRYS INSECTIFERA* L. POPULATIONS GROWING IN BELARUS USING MOLECULAR iPBS MARKERS

Abstract. An analysis of genetic heterogeneity was performed for two populations of *Ophrys insectifera* L. located in the Berezinsky Biosphere Reserve and the Verkudy village. The species are critically endangered (CR). The analysis of data obtained using iPBS markers detected the higher risk of extinction of the population in the Berezinsky Biosphere Reserve than the population from the Verkudy village, since the level of population genetic heterogeneity from the Verkudy is higher compared to the Berezinsky Biosphere Reserve. Molecular variance analysis (AMOVA) and other parameters of genetic variation showed the major fraction of intrapopulation variation (64 %, $G_{ST} = 0.26$). Principal Coordinates Analysis (PCoA) revealed two groups that coincided with natural populations, and confirmed a larger genetic heterogeneity in the population from the Verkudy.

Keywords: Molecular iPBS markers, *Ophrys insectifera* L., retrotransposons, genetic diversity, mobile genetic elements, DNA, PCR, AMOVA, PCoA

For citation: Samokhvalova N. V., Kruchonok A. V., Anoshenko B. Yu., Titok V. V. Evaluation of the genetic variability of *Ophrys insectifera* L. populations growing in Belarus using molecular iPBS markers. *Vestsi Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 223–231 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-223-231>

Введение. Национальные генетические ресурсы растений как один из основных компонентов биоразнообразия являются основой экологической безопасности страны. Негативная трансформация природных экосистем сопровождается стремительным обеднением видового состава растительных сообществ. Первыми на деструктивные изменения реагируют редкие виды растений, так как у больших популяций больше шансов на самовосстановление и самоподдержание [1].

Оценку генетического разнообразия и структуры популяций растений проводили с использованием молекулярных маркеров. Эти маркеры надежны, информативны и могут быть использованы на разных стадиях развития растения [2]. Изучение уровня и структуры генетическо-

го разнообразия природных популяций вида важно для сохранения генетических ресурсов. Основная задача популяционной генетики состоит в том, чтобы исследовать распределение и динамическое изменение частот аллелей на уровне популяции, которые вызваны эволюционными процессами и техногенными событиями. Для всестороннего решения этих задач были разработаны различные математические модели. Информация о генетическом разнообразии дает представление об эволюционной истории вида [3], что определяет выбор стратегии управления численностью популяций и методов ее осуществления [4].

Цель данного исследования – оценить внутри- и межпопуляционную генетическую изменчивость обнаруженных в Беларуси популяций *Ophrys insectifera* L. с использованием молекулярных iPBS-маркеров.

Объекты и методы исследования. Офрис насекомоносная (*Ophrys insectifera* L.) – реликтовый европейско-средиземноморский вид, существующий в Беларуси в отдельных локалитетах за восточной границей ареала и находящийся на грани исчезновения (I категория охраны – CR). Охраняется также в России, Украине, Эстонии, Литве и Латвии. Включен в Приложение II к Конвенции СИТЕС. В Беларуси известно два места произрастания.

Офрис насекомоносная – многолетнее травянистое растение высотой 15–35 см, с небольшими шаровидными или продолговатыми клубнями. Цветки небольшие, напоминают насекомое (осу), собраны в редкое колосовидное соцветие. Завязь слабо скрученная. Плод – эллипсоидальная коробочка с многочисленными семенами. Произрастает на сыроватых и заболоченных лугах, моховых ключевых и осоковых болотах. Предпочитает карбонатные почвы. Цветет в июне–июле, плодоносит в июле–августе. Энтомофил. Размножение семенное, крайне редко – вегетативное. Анемохор. Семена мелкие, прорастают только в присутствии микоризного гриба. Отличается оригинальным процессом опыления – путем псевдокопуляции. Считается, что для привлечения насекомых растение выделяет летучие вещества, идентичные половым феромонам определенных видов роющих ос. Самцы принимают цветки офриса за своих самок и пытаются осуществить с ними копуляцию. В результате насекомое, как правило, задевает клейкие поллинии и переносит их на своем теле к следующему цветку, осуществляя тем самым опыление [5].

В Беларуси этот вид впервые был обнаружен в 2009 г. в Березинском биосферном заповеднике (ББЗ) на восточной границе болота «Чистик» [6]. Представлен несколькими локалитетами, один из которых является пунктом постоянного наблюдения в системе мониторинга растительного мира МРМ-КК-Вм-5. Вторая популяция обнаружена в 2015 г. в окрестностях д. Веркуды (Ушачский район, Витебская область). Численность этой популяции на момент находки достигала 1000 экземпляров, однако из-за расположения в непосредственной близости от дороги подвергалась риску быть вытесненной инвазионными видами. Оба места произрастания располагаются на территориях, относящихся к редким биотопам с высоким уровнем видового разнообразия [7].

Этот вид находится под угрозой исчезновения из-за деградации среды обитания, которое принимает несколько форм: осушение болот, зарастание лугов, снижение уровня лесного хозяйства и вытеснение инвазионными видами. К тому же *O. insectifera* находится в очень тесной связи со своими опылителями, и реализация его генеративного потенциала напрямую зависит от стабильности популяций роющих ос. Этот вид подвержен также негативным воздействиям, вызванным аридизацией климата [8]. Вероятно, в ближайшее время возникнет необходимость в природоохранных мероприятиях, направленных на резервирование и восстановление популяций этого вида. Авторы данного исследования попытались дать ответы на вопросы, касающиеся выбора стратегии сохранения его популяций.

Для исследования генетической структуры популяций *O. insectifera* выделяли ДНК из предварительно высушенных в силикагеле листьев СТАВ-методом [9]. С помощью спектрофотометра NanoPhotometer (Pearl Implen GmbH, Германия) проверяли качество выделенной ДНК и определяли количество нуклеиновых кислот и белков в образце на основе их оптической плотности при длинах волн 260 и 280 нм соответственно. В исходных выборках соотношение 260/280 варьировалось от 1,8 до 2,16, а соотношение 260/230 – от 0,83 до 2,32. Образцы с низким показателем соотношения 260/230 были дополнительно очищены с использованием 0,7 %-ного СТАВ-буфера.

Для определения уровня генетического разнообразия популяций *O. insectifera* применяли iPBS (inter primer binding site amplification) молекулярные маркеры. Метод iPBS основан на использовании ретровирусами и LTR-ретротранспозонами клеточных тРНК в качестве праймеров для обратной транскрипции во время циклов их репликации. тРНК присоединяется к сайту связывания праймеров (PBS), смежным с 5'LTR, и синтезирует простые кДНК минус-цепи с помощью обратной транскриптазы. Продукт ПЦР содержит последовательности как LTR, так и PBS вместе с геномной ДНК между двумя LTR. Метод iPBS универсален и обладает рядом преимуществ, так как не требует предварительных знаний о последовательности LTR [10], а мишенями для праймеров могут служить фактически все ретротранспозоны. Для видовой и внутривидовой идентификации и анализа необходим небольшой набор праймеров, а использование простых аналитических систем для ретротранспозонных маркеров увеличивает преимущество данного метода [11].

В исследовании использовали праймеры, предложенные R. Kalendar с соавт. [11] (табл. 1). ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 25–50 нг ДНК, 5 мкл готовой смеси для ПЦР ScreenMix («Евроген», Россия), 1 мМ праймера для 12–13 п. н. праймеров или 0,6 мМ для 18 п. н. праймеров, и воды. Рекомендованная программа ПЦР включала: 1 цикл при 95 °C в течение 3 мин; 28–30 циклов при 95 °C в течение 15 с, при 50–60 °C (в зависимости от праймера) и при 68 °C (по 60 с); финальную элонгацию при 72 °C в течение 5 мин [11]. Амплификацию проводили в программируемом терморегуляторе C1000 Touch Thermal Cyclер (MJ Research Inc., Bio-Rad Laboratories, США), электрофорез – в 2 %-ном агарозном геле в течение 4,5 ч при напряжении 55 В. Окрашивание геля осуществляли бромидом этидия в течение 30 мин и визуализировали с помощью системы UV Imager Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

Таблица 1. Праймеры, используемые в исследовании

Table 1. Primers used in the study

Праймер	Оптимальная температура отжига, °C	Последовательность (5'–3')
2074	49,6	GCTCTGATACCA
2389	50,0	ACATCCTTCCCA
2373	51,0	GAACCTTGCTCCGATGCCA
2277	52,0	GGCGATGATACCA
2376	52,0	TAGATGGCACCA
2375	52,5	TCGCATCAACCA
2377	53,0	ACGAAGGGACCA
2378	53,0	GGTCCTCATCCA
2383	53,0	GCATGGCCTCCA
2374	53,5	CCCAGCAAACCA
2095	53,7	GCTCGGATACCA
2083	54,6	CTTCTAGCGCCA
2237	55,0	CCCCTACCTGGCGTGCCA
2239	55,0	ACCTAGGCTCGGATGCCA
2272	55,0	GGCTCAGATGCCA
2077	55,1	CTCACGATGCCA
2232	55,4	AGAGAGGCTCGGATACCA
2390	56,4	GCAACAACCCCA
2273	56,5	GCTCATCATGCCA
2394	56,5	GAGCCTAGGCCA
2220	57,0	ACCTGGCTCATGATGCCA
2242	57,0	GCCCCATGGTGGGCGCCA
2076	59,2	GCTCCGATGCCA
2271	60,0	GGCTCGGATGCCA
2415	61,0	CATCGTAGGTGGGCGCCA
2078	62,8	GCGGAGTCGCCA
2080	63,3	CAGACGGCGCCA
2081	65,0	GCAACGGCGCCA
2270	65,0	ACCTGGCGTGCCA

Для дальнейшего изучения межпопуляционных различий из 30 протестированных праймеров (табл. 1) было отобрано два – 2076 и 2390. Использование этих праймеров позволило получить четкие ампликоны ДНК с полиморфными локусами, оптимизировать условия проведения ПЦР и провести анализ генетической гетерогенности исследованных популяций. В результате конечная программа ПЦР включала: 1 цикл при 95 °С в течение 5 мин; 34 цикла при 95 °С в течение 15 с, для маркера 2076 – при 54 °С, для маркера 2390 – при 53 и 68 °С (по 60 с); финальную элонгацию при 72 °С в течение 5 мин.

Для построения двоичной матрицы на основе данных электрофореза использовали программу PyElph 1.4. Все полосы электрофореза, которые можно точно распознать, оценивали как присутствующие (1) или отсутствующие (0) и рассматривали как единичные доминантные локусы. Полученные данные регистрировали в виде бинарной матрицы, которую затем обрабатывали с помощью программы PopGene 1.31 для расчета таких параметров, как доля полиморфных локусов (P), эффективное (N_e) и наблюдаемое число аллелей (N_a), информационный индекс Шеннона (I) генетическое разнообразие Нея (H_e), общее разнообразие генов (H_t), разнообразие генов в популяциях (H_s), коэффициент генетической дифференциации ($G_{st} = [H_t - H_s]/H_t$) и поток генов в популяциях (N_m). Эти параметры были выбраны как наиболее подходящие для анализа результатов, полученных с использованием доминантных молекулярных маркеров [12]. Для расчета величины информационного полиморфизма (PIC) и среднего генетического расстояния, проведения анализа молекулярной вариации (AMOVA) и главных координат (PCoA) использовали пакет программ GenALEx 6.5.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 представлены результаты электрофореза для популяции из ББЗ с использованием iPBS-праймера 2076, применение которых позволило построить бинарную матрицу генетических расстояний.

Для исследуемых iPBS-маркеров установлены такие показатели, как количество полиморфных локусов, их доля и PIC (табл. 2).

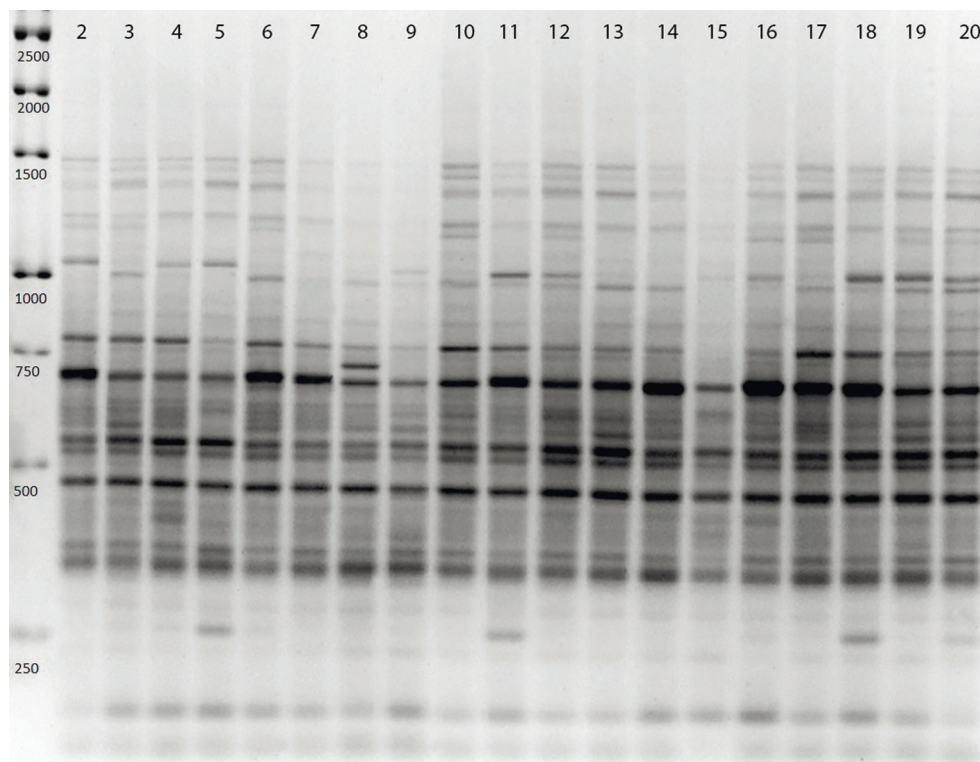


Рис. 1. Электрофорез результатов ПЦР с использованием 2076 iPBS-праймера для популяции ББЗ (дорожки 2–20). Первая дорожка – маркер молекулярного веса 1 Кб

Fig. 1. Electrophoresis of PCR results using a 2076 iPBS primer for the BBR population (2–20 lanes). The first lane – 1 Kb molecular weight marker

Т а б л и ц а 2. Характеристика iPBS-маркеров 2390 и 2076
T a b l e 2. Characteristics of iPBS markers 2390 and 2076

iPBS-маркер	К-во полиморфных локусов	Доля полиморфных локусов (P), %	Информационный полиморфизм (PIC)
2390	6	40,00	0,32
2076	22	81,48	0,47

При использовании маркера 2076 было обнаружено большее число полиморфных локусов, чем при использовании маркера 2390 (6 и 22 соответственно). Коэффициент PIC для маркера 2076 составил 0,47, для маркера 2390 – 0,32. Так как для доминантных маркеров максимальное значение PIC составило 0,5 [13], можно сделать вывод, что оба маркера являются информативными (маркер 2076 – высокоинформативным) и пригодными для оценки генетической гетерогенности популяций *Ophrys insectifera* L.

На основе полученных бинарных матриц для каждой из популяций были рассчитаны значения P , N_e , N_a , I , H_e . Кроме того, для всех локусов двух популяций были определены значения P , N_e , N_a , I , H_e , H_t , H_s , G_{st} и N_m (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Параметры генетического полиморфизма исследованных популяций *Ophrys insectifera* L.
T a b l e 3. Parameters of genetic polymorphism of the studied populations of *Ophrys insectifera* L.

Параметр	Популяция из д. Веркуды	Популяция из ББЗ	Вероятность различий между популяциями	Общее для двух популяций
Доля полиморфных локусов (P), %	61,9	33,33	0,996	66,67
Наблюдаемое число аллелей (N_a)	$1,62 \pm 0,08$	$1,33 \pm 0,07$	0,992	$1,67 \pm 0,07$
Эффективное число аллелей (N_e)	$1,3 \pm 0,05$	$1,19 \pm 0,05$	0,890	$1,34 \pm 0,06$
Генетическое разнообразие Ней (H_e)	$0,19 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,03$	0,951	$0,2 \pm 0,03$
Информационный индекс Шеннона (I)	$0,29 \pm 0,04$	$0,17 \pm 0,04$	0,971	$0,31 \pm 0,04$
Общее генетическое разнообразие (H_t)				$0,20 \pm 0,04$
Генетическое разнообразие в популяциях (H_s)				$0,15 \pm 0,02$
Коэффициент дифференциации популяций (G_{st})				0,26
Поток генов между популяциями (N_m)				1,43

П р и м е ч а н и е. Различия между популяциями оценивали по t -критерию Стьюдента, для доли полиморфных локусов – по критерию χ^2 .

Генетическое разнообразие в популяциях является очень важным для адаптации к изменяющейся среде и, как следствие, для долгосрочного выживания вида. Генетически однородные популяции более подвержены влиянию биотических и абиотических факторов и могут элиминироваться в результате распространения болезней и патогенов, а популяции с более узким диапазоном генотипов могут исчезать при экстремальных климатических условиях, таких как жара, холод, засуха и т. д. [4, 14].

При условии равновесия Харди–Вайнберга $N_e = 1,62$ для популяции из д. Веркуды и $N_e = 1,33$ для популяции из ББЗ. Значения H_e , I и P для популяции из д. Веркуды равняются 0,19; 0,29 и 61,9 % соответственно, а для популяции ББЗ – 0,11; 0,17 и 33,33 %.

Основываясь на полученных результатах, можно сделать вывод, что популяция из д. Веркуды является более генетически гетерогенной, чем популяция из ББЗ.

Для анализа генетической изменчивости для всех локусов двух популяций были рассчитаны N_a , N_e , H_e , I и P , которые составили 1,67; 1,34; 0,20; 0,31 и 66,67 соответственно (табл. 3).

Разнообразие генов в популяциях ($H_s = 0,15$) меньше общего генетического разнообразия ($H_t = 0,2$). G_{st} составил 0,26. Считается, что у инбредных популяций $G_{st} \geq 0,5$, т. е. группы растений представляют собой единую подразделенную популяцию, состоящую из субпопуляций [15]. Полученные данные позволяют предположить, что изученные группы (популяции) *O. insectifera* L. не являются единой популяцией, т. е., возможно, имели разных родоначальников.

Поток генов – это движение генов внутри и между популяциями. Интенсивность потока генов оказывает важное влияние на дифференциацию популяций. Обычно считается, что при $N_m > 1$ поток генов может предотвратить генетическую дифференциацию между популяциями,

вызванную генетическим дрейфом. Когда $Nm < 1$, генетический дрейф является основной причиной дифференциации генетической структуры среди популяций [16]. Следует подчеркнуть два важных момента: во-первых, расчет Nm не учитывает пространственное расположение популяций. Во-вторых, высокие показатели Nm могут отображать исторический генетический обмен и не указывать на текущие показатели миграции. Nm -значения демонстрируют поток генов за определенный (обычно неизвестный) период времени [17].

Для популяций *Ophrys insectifera* L. Nm составил 1,43, что указывает на высокий уровень обмена генов в исследованных популяциях. Но так как поток генов между популяциями в данный момент маловероятен из-за их географической удаленности, можно предположить, что ранее, в какой-то промежуток времени, поток генов между популяциями существовал.

Анализ молекулярной вариации показал, что большая часть генетического разнообразия (64 %) является внутривидовым, а доля генетической вариации между оцененными популяциями составляет 36 % (табл. 4). Разница между индивидами в популяциях была статистически значимой ($p < 0,001$). Считается, что $\Phi_i > 0,2$ указывает на значительное различие между популяциями [18]. Для исследованных популяций Φ_{iPT} составил 0,36, следовательно, выявлена значительная и достоверная генетическая дифференциация популяций.

Т а б л и ц а 4. Параметры генетического полиморфизма исследованных популяций *Ophrys insectifera* L.
T a b l e 4. Parameters of genetic polymorphism of the studied populations of *Ophrys insectifera* L.

Источник изменчивости	Число степеней свободы (df)	Сумма квадратов (SS)	Средний квадрат (MS)	Дисперсия	Φ_{iPT}	Доля в вариации
Общая вариация	37	160,97	4,35	5,26	0,36**	—
Между популяциями	1	38,97	38,97	1,87		0,36
Внутри популяций	36	122,00	3,39	3,39		0,64

П р и м е ч а н и е. ** – различия достоверны при уровне значимости $p < 0,01$.

На графике главных координат (ось 1 составляет 29,86 % отклонения, а ось 2 – 9,24 %), построенном по результатам iPBS-анализа, образцы сформировали две достаточно четкие группы (рис. 2).

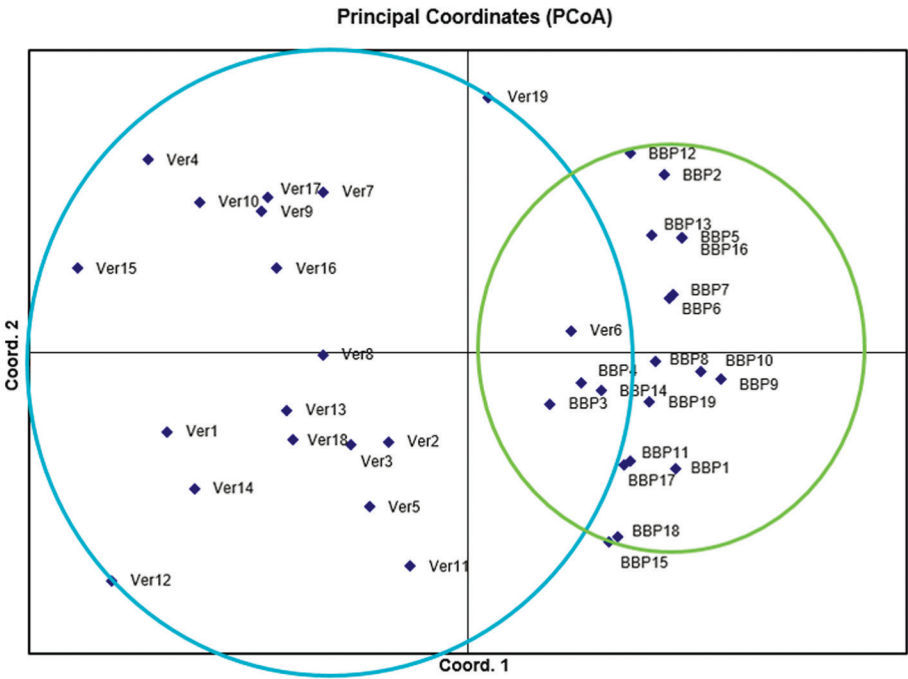


Рис. 2. Распределение исследованных образцов на первых двух главных координатах (PCoA)

Fig. 2. The distribution of the studied samples at the first two principal coordinates (PCoA)

Такое разделение популяций в целом совпадает с их географическим расположением. Анализ РСоА подтверждает ранее полученные данные о том, что популяция из д. Веркуды более генетически гетерогенна, чем популяция из ББЗ. Среднее генетическое расстояние для популяции из ББЗ составило 4,41, а для популяции из д. Веркуды – 9,15. Среднее расстояние между особями отражает внутривидовое разнообразие, и если расстояние мало, то, соответственно, и генетическое разнообразие также мало [19]. Результаты подтверждают то, что генетическое разнообразие для популяции из д. Веркуды существенно больше, чем для популяции из ББЗ.

Заключение. Низкий уровень генетического разнообразия может ограничить способность популяций растений реагировать на изменяющиеся условия окружающей среды. Для оценки генетической гетерогенности существует множество методов, в том числе молекулярных, которые основаны на мобильных генетических элементах. В проведенном исследовании примененный метод iPBS, который базируется на использовании LTR-ретротранспозонов, позволил исследовать генетическое разнообразие двух популяций *Ophrys insectifera* L. – из д. Веркуды и из ББЗ.

В результате проведения статистического анализа данных, полученных с помощью использования iPBS-маркеров 2390 и 2076, был определен уровень генетической гетерогенности для каждой из популяций. Установлено, что популяция из д. Веркуды, в отличие от популяции из ББЗ, имеет более высокий уровень генетического разнообразия.

Анализ молекулярной вариации позволил установить, что основная доля генетической изменчивости является внутривидовой (64 %). Полученное значение G_{ST} (0,26) показало, что популяции не являются субпопуляциями единой популяции. Анализ главных координат выявил две группы, которые совпадали с природными популяциями, и подтвердил большую генетическую гетерогенность у популяции из д. Веркуды.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что у популяции из ББЗ более высокий риск исчезновения, чем у популяции из д. Веркуды. Наличие более высокого уровня внутривидового разнообразия может указывать также на то, что для сохранения вида достаточно небольшое количество популяций. Следовательно, на территории Республики Беларусь необходимо контролировать состояние (генетическую гетерогенность) обеих найденных популяций.

Полученные нами результаты могут быть использованы для выбора стратегии сохранения вида и оценки способности популяций адаптироваться к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Список использованных источников

1. Population extinctions driven by climate change, population size, and time since observation may make rare species databases inaccurate / T. N. Kaye [et al.] // PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14, N 10. – P. e0210378 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210378>
2. Hamouda, M. Molecular analysis of genetic diversity in population of *Silybum marianum* (L.) Gaertn in Egypt / M. Hamouda // J. Gen. Eng. Biotechnol. – 2019. – Vol. 17, N 1. – Art. 12. <https://doi.org/10.1186/s43141-019-0011-6>
3. Neel, M. C. Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae) / M. C. Neel, N. C. Ellstrand // Conservation Genetics. – 2003. – Vol. 4, N 3. – P. 337–352. <https://doi.org/10.1023/A:1024017029933>
4. Genetic diversity and population structure of the rare and endangered plant species *Pulsatilla patens* (L.) Mill in East Central Europe / M. Szczecińska [et al.] // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11, N 3. – P. e0151730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151730>
5. Красная книга Республики Беларусь. Растения: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / И. М. Качановский [и др.]. – 4-е изд. – Минск : Беларус. энцыкл., 2015. – 448 с.
6. Созинов, О. В. *Ophrys insectifera* L. – новый вид сем. Orchidaceae для флоры Беларуси / О. В. Созинов // Ботаника (исследования) : сб. науч. тр. / Ин-т эксперим. бот. НАН Беларуси. – Минск, 2010. – Вып. 38. – С. 428–431.
7. Оценка морфо-экологических характеристик *Ophrys insectifera* L. двух удаленных ценопопуляций / А. В. Кручонок [и др.] // Мониторинг и оценка состояния растительного мира : материалы 5-й Междунар. науч. конф. (Беларусь, Минск, Беловежская пуща, 8–12 октября 2018 г.). – Минск, 2018. – С. 246–248.
8. Sanford, M. The Orchids of Suffolk / M. Sanford. – Ipswich : Suffolk Naturalists Society, 1991. – 123 p.
9. An efficient protocol for total DNA extraction from the members of order Zingiberales-suitable for diverse PCR based downstream applications / K. D. Devi [et al.] // SpringerPlus. – 2013. – Vol. 2. – Art. 669. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-669>

10. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing / M. A. Nadeem [et al.] // *Biotechnol. Biotechnol. Equipment*. – 2018. – Vol. 32, N 2. – P. 261–285. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401>
11. IPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation / R. Kalendar [et al.] // *Theor. Appl. Gen.* – 2010. – Vol. 121, N 8. – P. 1419–1430. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1398-2>
12. Mobile genomic element diversity in world collection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) panel using iPBS-retrotransposon markers / F. Ali [et al.] // *PLoS ONE*. – 2019. – Vol. 14, N 2. – P. e0211985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211985>
13. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrass (*Lolium spp.*) / I. Roldán-Ruiz [et al.] // *Mol. Breeding*. – 2000. – Vol. 6. – P. 125–134. <https://doi.org/10.1023/A:1009680614564>
14. Genetic diversity and population structure of naturally rare *Calibrachoa* species with small distribution in southern Brazil / A. L. de Wallau John [et al.] // *Gen. Mol. Biol.* – 2019. – Vol. 42, N 1. – P. 108–119. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0314>
15. Зарецкая, М. В. Генетическое разнообразие и популяционная структура вида *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. острова Валаам / М. В. Зарецкая, О. М. Федоренко // *Тр. Карельск. науч. центра Рос. акад. наук*. – 2016. – № 11. – С. 9–16.
16. Analysis of genetic population structure and diversity in *Mallotus oblongifolius* using ISSR and SRAP markers / W. Yan [et al.] // *PeerJ*. – 2019. – Vol. 7. – P. e7173. <https://doi.org/10.7717/peerj.7173>
17. Changing world: challenges for landscape research / ed. : F. Kienast, O. Wildi, S. Ghosh. – Berlin : Springer, 2007. – 297 p.
18. Resmi, L. Population genetic structure and diversity analysis of South Indian banana cultivars / L. Resmi, A. R. Nair, A. S. Nair // *J. Plant Breed. Crop Sci.* – 2016. – Vol. 8, N 1. – P. 1–12. <https://doi.org/10.5897/jpbcs2015.0519>
19. Дьяконов, В. П. Matlab 6.5 SP1/7/7 SP1/7 SP2 + Simulink 5/6. Инструменты искусственного интеллекта и биоинформатики / В. П. Дьяконов, В. В. Круглов. – М. : Солон Пресс, 2020. – 454 с.

References

1. Kaye T. N., Bahm M. A., Thorpe A. S., Gray E. C., Pfingsten I., Waddell C. Population extinctions driven by climate change, population size, and time since observation may make rare species databases inaccurate. *PLoS ONE*, 2019, vol. 14, no. 10, p. e0210378. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210378>
2. Hamouda M. Molecular analysis of genetic diversity in population of *Silybum marianum* (L.) Gaertn in Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2019, vol. 17, no. 1, art. 12. <https://doi.org/10.1186/s43141-019-0011-6>
3. Neel M. C., Ellstrand M. C. Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae). *Conservation Genetics*, 2003, vol. 4, no. 3, pp. 337–352. <https://doi.org/10.1023/A:1024017029933>
4. Szczecińska M., Sramko G., Wołosz K., Sawicki J. Genetic diversity and population structure of the rare and endangered plant species *Pulsatilla patens* (L.) Mill in East Central Europe. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 3. p. e0151730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151730>
5. Kachanovskii I. M., Nikiforov M. E., Parfenov V. I., Borodin O. I., Pugachevskii A. V., Baichorov V. M., Gapienko O. S., Giryayev A. S., Evdaseva T. P. *The Red Book of the Republic of Belarus. Plants: rare and endangered species of wild plants. 4th ed.* Minsk, Belaruskaya Entsiklapedyya Publ., 2015. 448 p. (in Russian).
6. Sozinov O. V. *Ophrys insectifera* L. – new species of Orchidaceae for flora of Belarus. *Botanika (issledovaniya): sbornik nauchnykh trudov* [Botany (research): collection of scientific papers]. Minsk, 2010, iss. 38, pp. 428–431 (in Russian).
7. Kruchonok A. V., Kozlova O. N., Ivkovich E. N., Avtushko S. A., Ivkovich V. S. Assessment of the morpho-ecological characteristics of two remote coenopopulations of *Monitoring i otsenka sostoyaniya rastitel'nogo mira: materialy 5 Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Belarus', Minsk, Belovezhskaya pushcha, 8–12 oktyabrya 2018 goda)* [Monitoring and assessment of the state of the flora: materials of the 5th International scientific conference (Belarus, Minsk, Belovezhskaya Pushcha, October 8–12, 2018)]. Minsk, 2018, pp. 246–248 (in Russian).
8. Sanford M. *The Orchids of Suffolk*. Ipswich, Suffolk Naturalists Society, 1991. 123 p.
9. Devi K. D., Punyarani K., Singh N. S., Devi H. S. An efficient protocol for total DNA extraction from the members of order Zingiberales- suitable for diverse PCR based downstream applications. *SpringerPlus*, 2013, vol. 2, art. 669. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-669>
10. Nadeem M. A., Nawaz M. A., Shahid M. Q., Doğan Y., Comertpay G., Yildiz M. [et al.]. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2018, vol. 32, no. 2, pp. 261–285. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401>
11. Kalendar R., Antonius K., Smýkal P., Schulman A. H. IPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, vol. 121, no. 8, pp. 1419–1430. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1398-2>
12. Ali F., Yılmaz A., Nadeem M. A., Habyarimana E., Subaşı I., Nawaz M. A. [et al.]. Mobile genomic element diversity in world collection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) panel using iPBS-retrotransposon markers. *PLoS ONE*, 2019, vol. 14, no. 2, p. e0211985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211985>
13. Roldán-Ruiz I., Dendaauw J., van Bockstaele E., Depicker A., De Loose M. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrass (*Lolium spp.*). *Molecular Breeding*, 2000, vol. 6, pp. 125–134. <https://doi.org/10.1023/A:1009680614564>

14. De Wallau John A. L., Geraldo M., Jeferson F. N., Loreta F. B. Genetic diversity and population structure of naturally rare *Calibrachoa* species with small distribution in southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 2019, vol. 42, no. 1, pp. 108–119. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0314>
15. Zaretskaya M. V., Fedorenko O. M. Genetic diversity and population structure of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. of Valaam Islands. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk* [Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences], 2016, no. 11, pp. 9–16 (in Russian).
16. Yan W., Li J., Zheng D., Friedman C., Wang H. Analysis of genetic population structure and diversity in *Mallotus oblongifolius* using ISSR and SRAP markers. *PeerJ*, 2019, vol. 7, p. e7173. <https://doi.org/10.7717/peerj.7173>
17. Kienast F., Wildi O., Ghosh S. (eds.). *A changing world: challenges for landscape research*. Berlin, Springer, 2007. 297 p.
18. Resmi L., Nair A. R., Nair A. S. Population genetic structure and diversity analysis of South Indian banana cultivars. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 2016, vol. 8, no. 1, pp. 1–12. <https://doi.org/10.5897/jpbcs2015.0519>
19. D'yakonov V. P., Kruglov V. V. *Matlab 6.5 SPI/7/7 SPI/7 SP2 + Simulink 5/6. Artificial intelligence and bioinformatics tools*. Moscow, Solon Press Publ., 2020. 455 p. (in Russian).

Информация об авторах

Самохвалова Наталья Владимировна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.Samakhvalava@cbg.org.by

Кручонок Аlesia Владимировна – науч. сотрудник, заведующий сектором. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: A.Kruchonok@cbg.org.by

Аношенко Борис Юрьевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: B.Anoshenko@cbg.org.by

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

Information about the authors

Natalia V. Samokhvalova – Junior Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Samakhvalava@cbg.org.by

Alesia V. Kruchonok – Researcher, Sector Manager. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: A.Kruchonok@cbg.org.by

Boris Yu. Anoshenko – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: B.Anoshenko@cbg.org.by

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

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

UDC 591.478.7:598.279
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-232-246>

Received 16.12.2020

Elena O. Fadeeva

*A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation*

FEATURES OF THE ARCHITECTONICS OF THE MICROSTRUCTURE OF THE PRIMARY REMEX OF OWLS (STRIGIFORMES) DUE TO THE SPECIFICS OF THE FLIGHT

Abstract. Conducted electron microscopic investigation of the primary remex fine structure of thirteen species of Owls (Strigiformes), using a scanning electron microscope (SEM). It is shown that Owls (Strigiformes) have a number of specific primary remex microstructural characteristics. First of all, these are the features of the structure of the pennaceous barb: a cross section configuration, a pith architectonics on the cross section and longitudinal sections, a cuticular structure of the barb.

A number of the unique features in the microstructure of the vanules of the pennaceous barb have been found for the first time (at the scanning electron microscope level, at a large SEM magnification). First of all, these are the structural features of the distal barbules and the structure of the apical portion of the barb with the elongated proximal barbules and the distal barbules tightly contiguous to the ramus and closed with each other. Mentioned characteristics make for the thick velvet-like dorsal surface of the vane and the presence of a complex of peculiar “bunches” (fringes) forming the cleft edge (a fringed edge) of the inner vane – exceptionally specific adaptive characteristics in Strigiformes.

Presented original research results suggest that Owls (Strigiformes) have a number specific microstructural characteristics of the primary remex and also a number of the unique features in the microstructure of the primary remex which reflecting the ecological and morphological adaptations conditioned by the flight specificity.

Keywords: Owls, electron microscopic investigation, primary remex, feather microstructure

For citation: Fadeeva E. O. Features of the architectonics of the microstructure of the primary remex of Owls (Strigiformes) due to the specifics of the flight. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 232–246. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-232-246>

Е. О. Фадеева

Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва, Российская Федерация

ОСОБЕННОСТИ АРХИТЕКТониКИ МИКРОСТРУКТУРЫ ПЕРВОСТЕПЕННОГО МАХОВОГО ПЕРА СОВООБРАЗНЫХ (STRIGIFORMES), ОБУСЛОВЛЕННЫЕ СПЕЦИФИКОЙ ПОЛЕТА

Аннотация. Морфологические адаптации птиц, связанные со способностью к полету, достаточно подробно изучены. При этом практически не исследованным остается строение микроструктуры пера, хотя именно микроструктурные характеристики играют важную роль в возникновении адаптационных эколого-морфологических особенностей архитектуры пера.

Совообразные (Strigiformes) – очень привлекательная для изучения группа птиц, с хорошо выраженными чертами специализации к ночному стилю охоты. Особый интерес вызывают комплексные исследования микроструктуры пера Strigiformes с помощью сканирующего электронного микроскопа (SEM), что позволяет визуализировать тонкую морфологию пера.

В настоящей работе представлены оригинальные результаты сравнительного исследования (ранее никем не проводившегося) тонкого строения первостепенного махового пера 13 видов совообразных с использованием SEM. Данная работа – продолжение нашего исследования микроструктуры контурного пера совообразных. Представленные результаты являются первой детальной информацией (на уровне SEM) о микроструктуре первостепенного махового пера совообразных.

Установлено, что для совообразных характерен ряд специфических микроструктурных особенностей первостепенного махового пера. Прежде всего это особенности строения бородки первого порядка контурной части опахала пера: конфигурация поперечного среза, архитектура сердцевинки на поперечном и продольном срезах, строение кутикулы бородки. В работе представлены электросканограммы микроструктурных характеристик, приведены их основные морфометрические показатели. Впервые выявлены сугубо специфические адаптивные характеристики пера совообразных – уникальные особенности микроструктуры опахальца бородки, обуславливающие густую ворсистость.

стую дорсальную паверхнасць опахала і наяўнасць комплексу свабодных «косіц», формуючых рассучаны край унутранага опахала.

Выяўленыя спецыфічныя характарыстыкі тонкага строення пера пераважна маюць характэрныя рысы, якія могуць быць зроблены для вывучэння напраўленнасці і дынамікі складанай радыяцыі морфалагічных, у тым ліку адаптацыйных, змяненняў мікратруктуры пера ў філагенезе птуш.

Ключевые слова: савообразныя, электроннамікроскопічнае даследаванне, пераважна маюць характэрныя рысы, якія могуць быць зроблены для вывучэння напраўленнасці і дынамікі складанай радыяцыі морфалагічных, у тым ліку адаптацыйных, змяненняў мікратруктуры пера ў філагенезе птуш.

Для цытавання: Фадеева, Е. О. Асабнасці архітэктонікі мікратруктуры пераважна маюць характэрныя рысы, якія могуць быць зроблены для вывучэння напраўленнасці і дынамікі складанай радыяцыі морфалагічных, у тым ліку адаптацыйных, змяненняў мікратруктуры пера ў філагенезе птуш. / Е. О. Фадеева // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 232–246 (на англ. яз.). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-232-246>

Introduction. Strigiformes are very interesting, in theoretical terms, groups of birds that are well separated morphologically and ecologically, combining common features with other birds of prey for a specific hunting style with a number of unique ecological and behavioral adaptations to the living conditions.

At present, the biology of the Strigiformes has been studied in some detail [1–12]. Nevertheless, in modern works that provide detailed descriptions of distinctive species-specific morphological features in the body structure and plumage of the Strigiformes [13–15], including an exhaustive description of the main aerodynamically advantageous macro-morphological characteristics of the contour feather of individual representatives of the Strigiformes [16–22], there is almost no information about microstructural features of the feather cover of the Strigiformes.

At the same time, the study of species-specific features of the feather architectonics and the identification of the main taxonomically important microstructural characteristics make it possible to effectively diagnose species by feathers and their fragments for the purposes of biological examination, as well as to reveal the specificity of the structure of feather elements, reflecting the birds' adaptation to living conditions, for example, enhancing the aerodynamic effect of the wing [18, 23–28].

In order to identify the main species-specific features of the fine structure of the feather of Strigiformes, as well as a number of microstructural characteristics of the feather, possibly having an adaptive nature, we first conducted a detailed comparative electron-microscopic investigation of the microstructure features of the primary remex of Strigiformes.

Materials and research methods. The objects of the study were adults of thirteen species of Strigiformes: Barn Owl *Tyto alba*, Eurasian Scops Owl *Otus scops*, Oriental Scops Owl *Otus sunia*, Snowy Owl *Nyctea scandiaca*, Eurasian Eagle-Owl *Bubo bubo*, Tawny Owl *Strix aluco*, Ural Owl *Strix uralensis*, Great Grey Owl *Strix nebulosa*, Northern Hawk-Owl *Surnia ulula*, Eurasian Pygmy Owl *Glaucidium passerinum*, Little Owl *Athene noctua*, Boreal Owl *Aegolius funereus*, Long-eared Owl *Asio otus*, which was a continuation of our study of the microstructural features of the contour feather of Strigiformes [25, 26, 29–31]. Species names and systematic order were given by Dickinson [32]. The terminology was used in accordance with the work of Lucas, Stettenheim [23].

The material for the work was the primary remiges, kindly provided to us by A. B. Savinetsky (A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow), V. G. Babenko (Moscow State Pedagogical University), and P. I. Dudin (State Nature Reserve “Galichya Gora”).

For the comparative electron-microscopic investigation we used the most informative fragments of a feather: pennaceous barbs of a primary remex and pennaceous barbules of a primary remex (Fig. 1).

With separate copies for each of the studied species of Strigiformes, a comparative analysis was carried out using a method based on the selection of a row of barbs of a specific area of the vanes [34, 35]. A series of 10–15 pennaceous barbs of the primary remiges inner vane was used in one individual of each species. The identification of species-specific microstructural characteristics was carried out in four sections of each barb. At the same time, we included only those species-specific characteristics that were noted in the structure of each, without exception, barb of the selected row.

Thus, the data below are based on a detailed analysis of 40–60 sample sites in one individual of each studied species of Strigiformes.

Preparation of barbs was carried out according to the following method repeatedly approved by us [25–31, 36, 37].

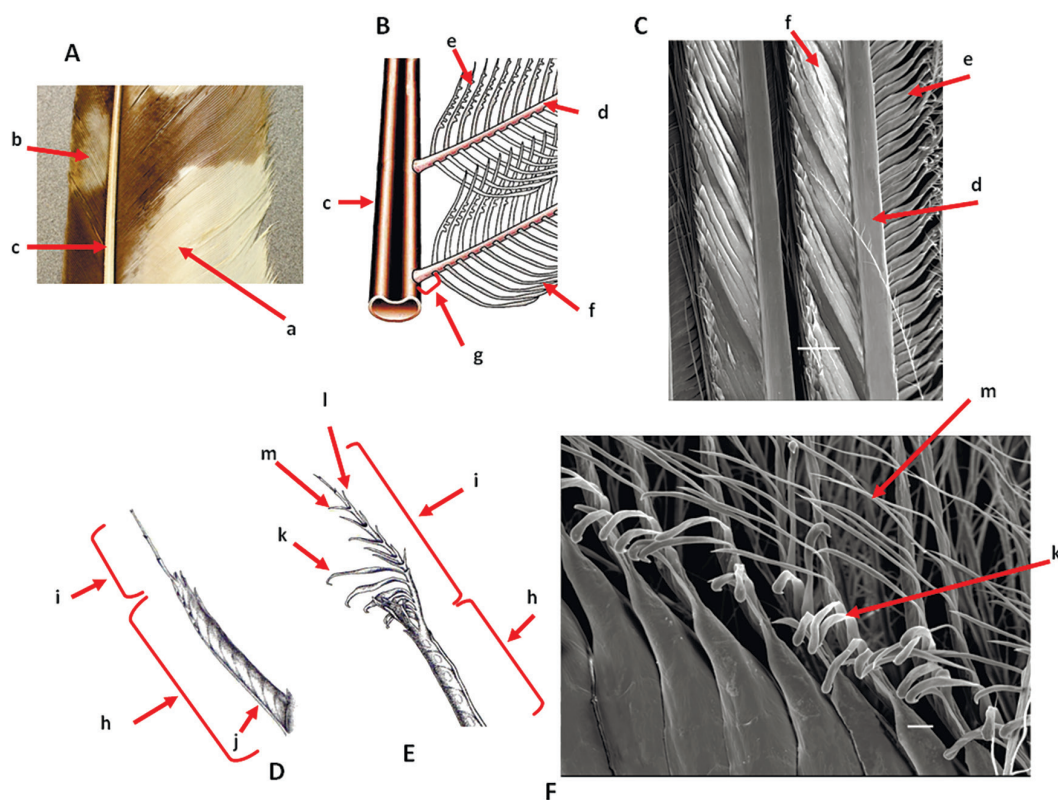


Fig. 1. Microstructure of the pennaceous barbs of a primary remex inner vane: *A* – a segment of a primary remex inner vane of a Long-Eared Owl *Asio otus*, a ventral surface; *B* – scheme of a segment of a contour feather inner vane (adapted from [33]); *C* – ventral surface of a primary remex inner vane of a Long-Eared Owl *Asio otus*. Pennaceous barbules of a remex inner vane: *D* – proximal barbule (adapted from [23]); *E* – distal barbule (adapted from [23]); *F* – distal barbules of a primary remex inner vane of a Long-Eared Owl *Asio otus* (*a* – inner vane; *b* – outer vane; *c* – rachis; *d* – ramus; *e* – distal barbules; *f* – proximal barbules; *g* – under vanules region of the pennaceous barb; *h* – base; *i* – pennulum; *j* – dorsal flange; *k* – hooklet; *l* – dorsal cilium; *m* – ventral cilium). Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: *C* – 100 μm ; *F* – 10 μm)

The barbs were thoroughly washed in distilled water, then dehydrated in ethanol series of increasing concentrations to acetone, dried in air and placed on the stage (a platform below the objective which supports the specimen being viewed), at the base of a MC-2 ZOOM binocular stereoscopic microscope intended for fine preparation.

The prepared barbs, including cross sections of barbs and longitudinal sections of barbs, were transferred to special aluminum sample stubs, where they were fixed with conductive glue designed for sample preparation. Preformed preparations were sprayed with gold with a thickness of 100–200 Å by the method of ion deposition under vacuum conditions on the Edwards S150A sputter coater (Great Britain), viewed and photographed using a JEOL-840A scanning electron microscope (SEM) (Japan), at accelerating voltage of 15 kV, in secondary electron imaging mode. The work was carried out in the Cabinet of electron microscopy of the A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow.

Overall, 892 preparations of the pennaceous barbs of a primary remex of the studied species of Strigiformes were made, on the basis of which 2652 scanning electron micrographs were made and analyzed.

The analysis of the obtained scanning electron micrographs made it possible to investigate in detail the microstructural features of the primary remex in 13 species of Strigiformes and to compare the data obtained with the results of investigations conducted by us earlier.

The following microstructural characteristics were taken as the basis for the description of the fine structure of the primary remex: the configuration of the cross-section of the barb (Fig. 2); the structure of the medulla in a cross section of the barb and the structure of the medulla in the longitudinal section of the barb; the structure of the cuticula of the ramus: the relief of the cuticula, the configuration of the

cuticular cells; the microstructure of the vanules: a structure of proximal barbules, a structure of distal barbules, including the configuration of the free sections of the keratinized cuticular cells of the distal barbules, forming the dorsal surface of the vane.

The shape of cross-section of the ramus was determined based on the index of elongation (the ratio of the ramus cross section width to the ramus cross section length expressed in percentage) (Fig. 3, *A*). We used the method described in the work of Weger, Wagner [21] to evaluate the degree of the curvature of the ventral ridge (Fig. 3, *B*).

The effectiveness of the above characteristics of the fine structure of the primary remex using SEM for taxonomic identification of species has been proven by us in previous investigations [27, 28].

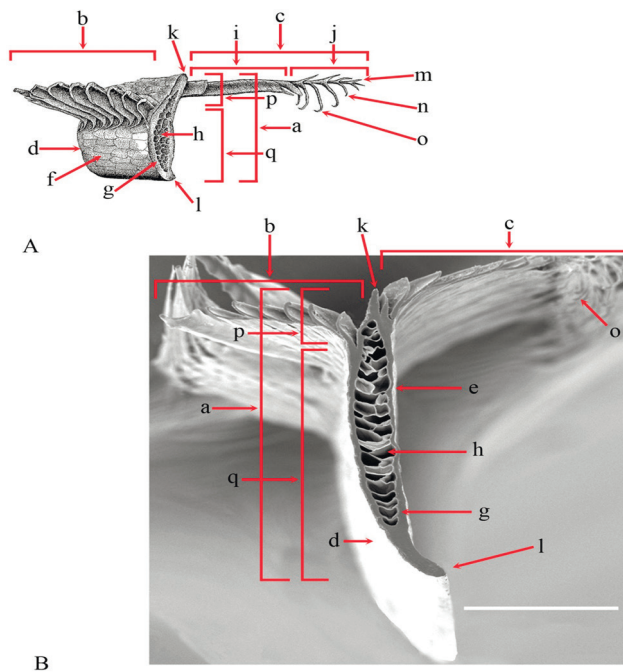


Fig. 2. Microstructure of the cross section of the ramus of a primary remex inner vane: *A* – segment of a pennaceous barb from a contour feather (adapted from [23]); *B* – cross section of the ramus of the Barn Owl *Tyto alba* primary remex inner vane pennaceous barb; the barb basal portion (*a* – ramus; *b* – proximal barbules; *c* – distal barbules; *d* – cuticula of the proximal lateral surface of the ventral part of the ramus; *e* – cuticula of the distal lateral surface of the ventral part of the ramus; *f* – cuticular cell; *g* – cortex; *h* – medulla; *i* – base; *j* – pennulum; *k* – dorsal ridge; *l* – ventral ridge; *m* – dorsal cilium; *n* – ventral cilium; *o* – hooklet; *p* – dorsal part of the ramus; *q* – ventral part of the ramus). Scanning electron micrograph (microscope JEOL-840A; scale: 100 μ m)

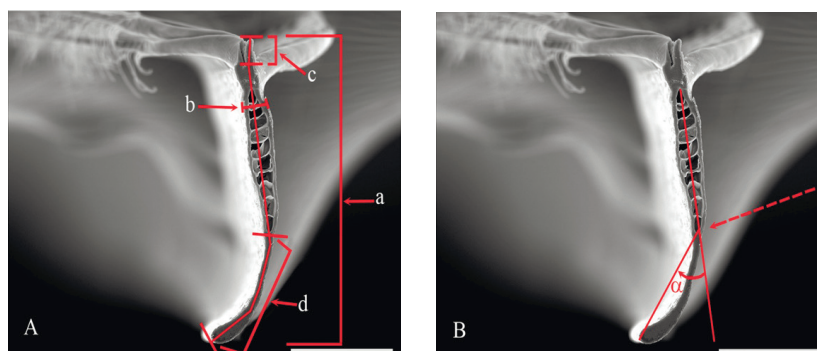


Fig. 3. Quantification of the ramus cross section configuration (cross section of the ramus of the Boreal Owl *Aegolius funereus* primary remex inner vane pennaceous barb; the pennaceous barb basal portion): *A* – four morphometric parameters of the cross section of the ramus: *a* – cross section length; *b* – cross section width; *c* – dorsal ridge length; *d* – ventral ridge length; *B* – tip displacement angle α is the angle between the central longitudinal axis of the cross section of the ramus and the tip of the ventral ridge measured from the point of separation – base of the ventral ridge (it is indicated by the dotted arrow). Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: 100 μ m)

Research results. Configuration of the cross section of the barb. In the studied representatives of Strigiformes, the shape of the cross-section of the lower (basal) part of the pennaceous barb is species-specific due, first of all, to the variety of such structural details as the degree of flattening of the cross section from the lateral sides, the shape and ratio of the dorsal ridge and the ventral ridge, the nature of the curvature of the cross section.

The elongated, strongly flattened from the lateral sides willow-leaf shape of the cross section (limits of the elongation index are 4.8–6.3) was noted in *N. scandiaca*, *B. bubo*, *S. nebulosa*, *A. noctua*, and *A. otus*. Wherein, the greatest flatness (the elongation index is 4.8) was expressed in *B. bubo* and *A. noctua*. A less flattened lanceolate shape of the cross section (limits of the elongation index are 7.4–12.97) was noted in *T. alba*, *O. scops*, *O. sunia*, *S. aluco*, *S. uralensis*, *S. ulula*, *G. passerinum*, and *A. funereus*. Wherein, the most extended form of the cross section found in *T. alba*, *O. scops*, and *O. sunia* (elongation indices are 12.20; 10.59; 12.97 (see Table)).

In all the species of Strigiformes studied by us the dorsal ridge was insignificantly expressed; the ventral ridge, in contrast, was well developed and its length exceeded that of the dorsal ridge. The ventral ridge is the most elongated in *B. bubo*, *S. aluco*, *S. uralensis*, *G. passerinum*, *A. funereus*, *A. otus* and in *A. funereus* the ventral ridge has a thick club-shaped apex.

In addition, in all the species of Strigiformes studied by us, the ventral ridge is characterized by an arcuate-curved shape (limits of the curvature are $15^{\circ}44'$ – $44^{\circ}39'$). Wherein, the curvature of the ventral ridge most pronounced in *N. scandiaca*, *S. ulula*, and *A. noctua* (limits of the curvature are $35^{\circ}00'$ – $44^{\circ}39'$ (see Table)).

The configuration of the cross section of the overlying portions of the barb (medial and distal portions) undergoes significant changes. The length is reduced, the width increases, due to which the cross section becomes more extended and rounded. So, a rounded ellipsoid cross section with fairly convex lateral surfaces is common in the distal part of the barb (limits of the elongation index are 28.13–52.36 (see Table)).

The ventral ridge in the distal part of the barb was severely shortened, dilated at the base, fairly curved (limits of the curvature are $26^{\circ}49'$ – $42^{\circ}26'$) (*T. alba*, *O. scops*, *O. sunia*, *B. bubo*, *S. aluco*, *S. uralensis*, *S. ulula*, *G. passerinum*, *A. noctua*, *A. funereus*, *A. otus*). Less pronounced curvature of the ventral ridge in *S. nebulosa* (the curvature is $11^{\circ}80'$) and *N. scandiaca* (the curvature is $14^{\circ}47'$) (see Table).

Thus, in Strigiformes, the configuration of the cross section of the barb varies in direction from the base of the barb to its top: from the narrow, highly flattened willow-leaf shape in the basal part of the barb to the extended round shape in the upper distal part of the barb. One ridge passes in the middle of the dorsal part of the ramus and the other ridge passes in the middle of the ventral part of the ramus: the dorsal ridge and ventral ridge, respectively. The ridges are raised above the surface of the ramus, and the ridge on the ventral part of the ramus is significantly higher than the ridge on the dorsal part of the ramus, especially at the beginning of the basal part of the barb (proximal part), as a result, a strong bending of the ventral ridge is noted in the area of the attachment of the ramus to the rachis.

Structure of the barb medulla. Comparison of the architectonics of the medulla in the cross section of the barb and the longitudinal section of the barb allowed us to identify a number of features of the structure of the barb medulla, configuration features of the medullary air chambers and relief features of its walls (Fig. 4).

In all the studied species of Strigiformes, the medulla is absent under vanules of the barb (the place of the ramus attachment to the rachis (see Fig. 1, g)); cortex, completely filling the inner part of the barb, has an uniform structure. The medulla appears in the ramus area at the beginning of the basal part of the barb. In the overlying portions of the barb (medial and distal portions), the medulla begins to predominate in the internal structure of the ramus, while in the structure of the dorsal ridge and ventral ridge the medulla is still absent and the inside of both ridges is represented only with cortex. In general, the medulla of the barb is represented by a set of tightly packed medullary air chambers separated by thin walls.

At the cross section at the beginning of the basal part of the barb, the medulla has a single-row (*B. bubo* (the single-row medulla prevails), *S. uralensis*, *S. ulula* (Fig. 5, G), *A. noctua*, *N. scandiaca* (the single-row medulla prevails), *A. funereus*, *A. otus* (the single-row medulla prevails)), or one-two-row (*T. alba* (Fig. 5, A), *O. scops* (Fig. 5, C), *O. sunia*, *S. aluco*, *S. nebulosa*, *G. passerinum*) cellular, porous structure. In the subsequent medial part of the barb and the distal part of the barb, in almost all the studied species, the medulla is one-two-row and only *N. scandiaca* has a two-three-row medulla.

Morphometric characteristics of the cross section of the ramus of the pennaceous barb of a primary remex inner vane of all Strigiformes species investigated

Species	The cross section of the ramus of the pennaceous barb					The distal part of the pennaceous barb				
	The basal part of the pennaceous barb			The cross section of the ramus of the pennaceous barb		The cross section of the ramus of the pennaceous barb			The cross section of the ramus of the pennaceous barb	
	<i>n</i>	The cross section width, μm	The cross section length, μm	The elongation index of the cross section, %	Angle α , degrees	<i>n</i>	The cross section width, μm	The cross section length, μm	The elongation index of the cross section, %	Angle α , degrees
<i>Tyto alba</i>	11	30.6867 $\pm$ 2.15370	253.6945 $\pm$ 1.657022	12.2033 $\pm$ 1.07598	29.7586 $\pm$ 0.412409	11	26.3933 $\pm$ 2.03431	69.7333 $\pm$ 1.069713	37.8800 $\pm$ 2.90814	38.3657 $\pm$ 0.450594
<i>Otus scops</i>	12	25.4875 $\pm$ 0.92349	241.7079 $\pm$ 1.137632	10.5900 $\pm$ 0.92383	21.5600 $\pm$ 2.55850	12	26.0875 $\pm$ 2.38916	70.3908 $\pm$ 1.077201	37.2495 $\pm$ 1.49682	30.5590 $\pm$ 0.824247
<i>Otus sunia</i>	12	26.2075 $\pm$ 2.110282	202.4968 $\pm$ 1.684318	12.9650 $\pm$ 1.182554	15.4377 $\pm$ 0.682049	12	28.5775 $\pm$ 0.762818	54.6657 $\pm$ 1.078152	52.3584 $\pm$ 1.067547	27.6771 $\pm$ 0.787124
<i>Nyctea scandiaca</i>	12	52.8500 $\pm$ 0.79662	842.1156 $\pm$ 1.713501	6.2785 $\pm$ 0.15897	35.0075 $\pm$ 2.85047	13	49.3800 $\pm$ 0.513452	150.4517 $\pm$ 1.626879	32.7178 $\pm$ 2.02393	14.4653 $\pm$ 0.441804
<i>Bubo bubo</i>	15	128.348 $\pm$ 1.126087	2667.385 $\pm$ 1.560216	4.813 $\pm$ 0.3043	31.565 $\pm$ 0.9161	12	99.676 $\pm$ 0.738078	314.453 $\pm$ 1.614307	31.746 $\pm$ 2.5284	26.491 $\pm$ 0.9688
<i>Strux aluco</i>	12	36.4648 $\pm$ 1.597484	429.7054 $\pm$ 1.627101	8.5364 $\pm$ 1.75156	28.6674 $\pm$ 0.625274	10	35.8100 $\pm$ 2.06475	114.9357 $\pm$ 1.835587	31.3550 $\pm$ 0.96874	27.4697 $\pm$ 1.050445
<i>Strux uralensis</i>	10	35.1200 $\pm$ 1.38593	473.3533 $\pm$ 1.630208	7.4240 $\pm$ 0.17819	31.8350 $\pm$ 1.80312	10	40.4073 $\pm$ 1.058509	143.3437 $\pm$ 1.717346	28.1300 $\pm$ 0.39598	42.2614 $\pm$ 0.575136
<i>Strix nebulosa</i>	13	39.4429 $\pm$ 1.021253	672.5941 $\pm$ 1.657810	5.8852 $\pm$ 0.74162	30.7514 $\pm$ 1.132143	14	33.1800 $\pm$ 2.93957	97.7272 $\pm$ 2.421718	34.2083 $\pm$ 2.44624	11.7967 $\pm$ 0.97977
<i>Surnia ulula</i>	13	31.6560 $\pm$ 0.903178	345.4024 $\pm$ 1.117767	9.1710 $\pm$ 0.415112	38.2060 $\pm$ 1.290994	12	31.6408 $\pm$ 1.094696	85.6493 $\pm$ 1.205178	37.1640 $\pm$ 1.670812	40.6950 $\pm$ 0.816497
<i>Glaucidium passerinum</i>	12	16.5125 $\pm$ 0.745447	185.3748 $\pm$ 1.034376	8.9247 $\pm$ 0.517974	25.0650 $\pm$ 1.564236	10	18.3700 $\pm$ 1.032376	60.3650 $\pm$ 2.877925	30.5379 $\pm$ 1.131569	39.3437 $\pm$ 1.146597
<i>Athene noctua</i>	11	21.4933 $\pm$ 0.55474	445.2539 $\pm$ 1.648782	4.8333 $\pm$ 0.16653	44.3943 $\pm$ 0.436992	11	24.4200 $\pm$ 1.02196	73.4884 $\pm$ 1.574784	33.6700 $\pm$ 1.099151	28.9600 $\pm$ 1.08972
<i>Aegolius funereus</i>	10	22.5950 $\pm$ 0.685894	245.0450 $\pm$ 0.926310	9.2200 $\pm$ 0.240416	28.5900 $\pm$ 1.711198	14	26.0850 $\pm$ 1.341712	53.8650 $\pm$ 2.716606	48.59557 $\pm$ 1.078750	28.38571 $\pm$ 1.162252
<i>Asio otus</i>	11	33.8633 $\pm$ 0.65623	549.6296 $\pm$ 1.683541	6.1600 $\pm$ 0.18520	32.3657 $\pm$ 0.70590	10	36.2400 $\pm$ 1.49907	83.2400 $\pm$ 2.12132	43.5300 $\pm$ 0.69296	39.4529 $\pm$ 0.59056

Note. *n* – number of measured cross sections, angle α – the angle between the central longitudinal axis of the cross section of the ramus and the tip of the ventral ridge measured from the point of separation – the base of the ventral ridge.

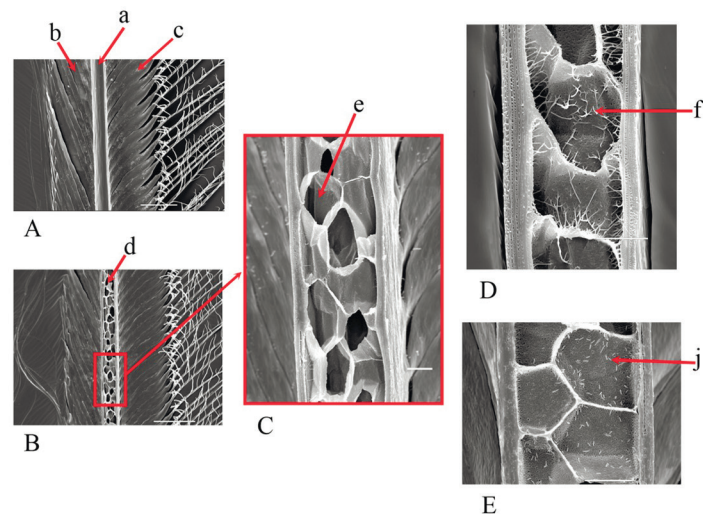


Fig. 4. Medulla in the longitudinal section of the ramus of the primary remex inner vane pennaceous barb: *A* – ventral surface of a Barn Owl *Tyto alba* pennaceous barb; the medulla in the longitudinal section of the ramus of a pennaceous barb: *B*, *C* – in the Barn Owl *Tyto alba*, *D* – in the Eurasian Scops Owl *Otus scops*, *E* – in the Boreal Owl *Aegolius funereus* (*a* – ramus; *b* – proximal barbules; *c* – distal barbules; *d* – the longitudinal section of the ramus; *i* – medullary chamber; *f* – keratin filaments; *j* – pigment granules). Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: *A*, *B* – 100 μm ; *C*–*E* – 10 μm)

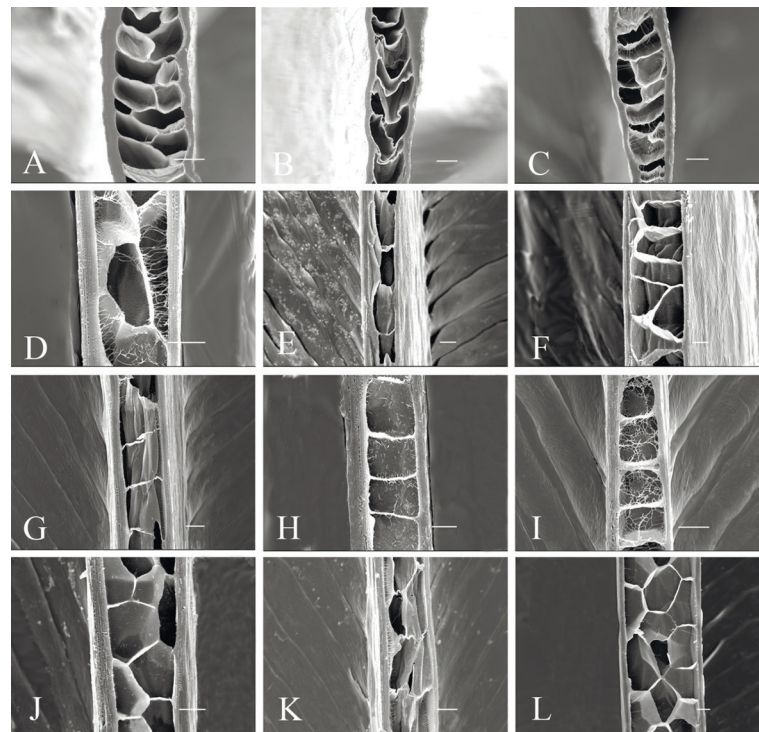


Fig. 5. Medulla of the ramus of the Strigiformes primary remex: the cross section of the ramus (*A* – *Tyto alba*; *B* – *Surnia ulula*; *C* – *Otus scops*) and the longitudinal section of the ramus (*D* – *Otus scops*; *E* – *Tyto alba*; *F* – *Strix nebulosa*; *G* – *Surnia ulula*; *H* – *Surnia ulula*; *I* – *Surnia ulula*; *J* – *Strix uralensis*; *K* – *Glaucidium passerinum*; *L* – *Nyctea scandiaca*). Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: 10 μm)

On the longitudinal section at the beginning of the basal part of the barb, the medulla in the most of the studied species is a mixed one-two-row, and in only *T. alba* (Fig. 5, *E*), *B. bubo*, *A. noctua* and the medulla is a single-row. In the subsequent parts of the barb, in most species, the one-two-row structure of the medulla is found more often than two-row (*A. noctua*) or two-three-row (*T. alba*, *N. scandiaca* (Fig. 5, *L*). In the upper apical part of the barb, the medulla in most of the studied species is single-row.

Thus, in the central part of the ramus, there is the medulla formed by chambers arranged in regular rows, the number of which varies in different parts of the barb.

The configuration of the medullary air chambers is quite diverse. On the cross section in the basal part of the barb we found the flattened form of the transverse chambers (*N. scandiaca*, *B. bubo*, *S. uralensis*, *A. funereus*), and the flatness of the chambers may vary considerably. V-shaped curved chambers are less common (*S. ulula* (Fig. 5, B), *A. noctua*, *A. otus*). In addition, we found the medulla of the mixed type, formed by the alternation of rounded and flattened medullary air chambers (*T. alba* (Fig. 5, A), *O. scops* (Fig. 5, C), *O. sunia*, *S. aluco*, *S. nebulosa*, *G. passerinum*).

In the structure of the medulla on the cross section in the subsequent parts of the barb in the overwhelming majority of species there is an alternation of rounded and flattened chambers (*T. alba*, *O. sunia*, *N. scandiaca*, *B. bubo*, *S. uralensis*, *S. ulula*, *A. noctua*); the predominance of flattened chambers is in *S. nebulosa* and *A. otus*, rounded – in *O. scops* and *A. funereus*. Thus, only in *O. sunia*, *S. aluco* and *G. passerinum* the uniform configuration of chambers on the cross section was noted in the structure of the medulla throughout the barb. The longitudinal section also revealed a difference in the configurations of the medullary chambers in different parts of the barb.

The relief of the medullary chambers walls is not equally pronounced in different parts of the barb. Thus, in the cross section in the basal part of the barb, the large-wavy relief of the chambers walls (Fig. 5, B, C) is noted in all the studied species, with the exception of *T. alba* (Fig. 5, A), which has a smooth, slightly wavy relief of the chambers walls. In the subsequent parts of the barb, the large-wavy surface of the chambers walls is noted in all the studied species. In the longitudinal section of the barb, the vast majority of the studied species have alternating chambers with large-plicated (Fig. 5, E, G, K), large-wavy (Fig. 5, D, F, L), less often smooth walls (Fig. 5, H, I): *T. alba* (Fig. 5, E), *O. scops* (Fig. 5, D), *O. sunia*, *N. scandiaca* (Fig. 5, L), *B. bubo*, *S. aluco*, *S. nebulosa* (Fig. 5, F), *S. ulula* (Fig. 5, G, H, I) (deep longitudinal plicate of the chambers walls in the beginning of the basal part of the barb (Fig. 5, G)), *G. passerinum* (Fig. 5, K), *A. noctua*, *A. funereus*, and *A. otus*. The smooth or slightly wavy relief of the medullary chambers walls distinguishes *S. uralensis* (Fig. 5, J).

In addition to the features described above, the presence or absence of keratin filaments forming the medullary chambers framework and pigment granules on the chamber walls can be a significant addition to the complex characteristic of the barb medulla.

The structure of the inner filamentous framework of the medullary chambers looks differently on the cross section and on the longitudinal sections in different parts of the barb. On the cross section in the basal part of the barb the absence of the filamentous framework was noted in *A. funereus*; occasionally, groups of short and long threads were found in the medullary chambers framework in *T. alba* (Fig. 5, A), *O. sunia*, *N. scandiaca*, *B. bubo*, *S. aluco*, *S. uralensis*, *S. nebulosa*, *S. ulula* (Fig. 5, B), *G. passerinum*, *A. noctua*, and *A. otus*; keratin filaments occurring in all the medullary chambers, but unevenly (in some medullary chambers the filaments are rare, in others – quite numerous), noted in *O. scops* (Fig. 5, C). On the cross section in the subsequent parts of the barb an uneven distribution of the filaments with the formation of individual thick accumulations predominates (*T. alba*, *O. scops*, *O. sunia*, *S. aluco*, *S. uralensis*, *S. nebulosa*, *S. ulula*, *G. passerinum*, *A. noctua*); occasionally occurring filaments groups were still noted in *N. scandiaca*, *B. bubo*, *A. otus*; and *A. funereus* had practically no filaments, there were small groups of small, very short filaments only in some medullary chambers. In the longitudinal section of the barb, few filaments were found in the medullary chambers framework in *T. alba* (Fig. 3, C; Fig. 5, E), *N. scandiaca* (Fig. 5, L), *S. aluco*, *S. uralensis* (Fig. 5, J), *S. nebulosa* (Fig. 5, F), *G. passerinum* (Fig. 5, K), *A. noctua*, *A. funereus*, and *A. otus*; abundance of filaments in the framework of the medullary chambers was found in *O. scops* (Fig. 4, D) and *O. sunia*. The uneven distribution of the filaments of the medullary chambers framework was noted in *B. bubo* and *S. ulula* (Fig. 5, G, H, I): the filaments, which are weakly expressed in the lower parts of the barb (the occurrence of filaments is 22.22–40.74 % in *B. bubo*; 16.67–50 % in *S. ulula*), form thick plexuses in the upper distal part of the barb (Fig. 5, I) (the occurrence of filaments is 70–85 % in *B. bubo*; 88.89 % in *S. ulula*). The occurrence of filaments in medullary chambers in a certain part of the longitudinal section of the barb was evaluated as a percentage of accounting portions with the presence of filaments from the total number of accounting portions in this part of the longitudinal section of the barb.

Pigment granules on the walls of the medullary chambers were not found in *T. alba* (Fig. 4, C; Fig. 5, A, E), *N. scandiaca* (Fig. 5, L), and *S. nebulosa* (Fig. 5, F). In the other species studied, the pigment granules were absent only in the basal part of the barb in the cross section. At the same time, in the overwhelming majority of species disseminations of pigment granules were relatively evenly distributed in the medullary air chambers throughout the barb (Fig. 4, E; Fig. 5, J). In *S. ulula*, pigment granules are unevenly distributed, sometimes forming quite numerous accumulations in separate medullary chambers in the longitudinal section of the barb (Fig. 5, H).

Structure of cuticula of ramus. The structure of the cuticula of the ramus in all the species of the Strigiformes studied by us undergoes noticeable changes in the direction from the base of the barb to its top. Besides, differences were noted in the configuration of the cuticular cells of each of the two lateral surfaces (distal and proximal) of the ramus, which is consistent with the results of our previous investigations [25, 26, 29–31].

Due to the above, for comparative analysis, we selected a specific area of the cuticula of the ramus – the distal lateral surface of the ventral part of the ramus in the basal part of the barb.

In all the species of Strigiformes studied by us, cuticular cells were oblong, longitudinally oriented, tightly closed. In the majority of the species studied (*O. scops*, *O. sunia*, *N. scandiaca* (Fig. 6, B), *B. bubo* (Fig. 6, A), *S. aluco*, *S. nebulosa*, *A. otus* (Fig. 6, E)), the edges of the cuticular cells were thickened and well expressed (limits of the width are 1.0–3.73 μm). Especially well expressed edges of cells were found in *N. scandiaca* (the width is $3.73 \pm 0.66 \mu\text{m}$). Slightly thickened edges of cuticular cells (limits of the width are 0.69–0.75 μm) were found in *S. ulula* (Fig. 6, F), *A. noctua*, and *A. funereus*. Cuticular cells with not thickened (limits of the width are 0.23–0.40 μm), weakly pronounced edges were noted in *T. alba* (Fig. 6, D), *S. uralensis*, and *G. passerinum* (Fig. 6, C).

The relief of the surface of the cuticular cells in all studied species was smoothed, fibrous, represented by tightly fitting and intertwining fibers, while in *G. passerinum* (Fig. 6, C) and *T. alba* (Fig. 6, D) we revealed distinct separated plexuses of large fibers over the main dense fibrous structure of the cuticular surface. In all studied species slightly convex ring-shaped structures were noted on the surface of the cuticular cells, especially expressed in *N. scandiaca* (numerous, found in almost every cell) (Fig. 6, B), *B. bubo* (Fig. 6, A) and *A. otus* (Fig. 6, E), less clearly – in *G. passerinum* and *A. noctua*, weakly

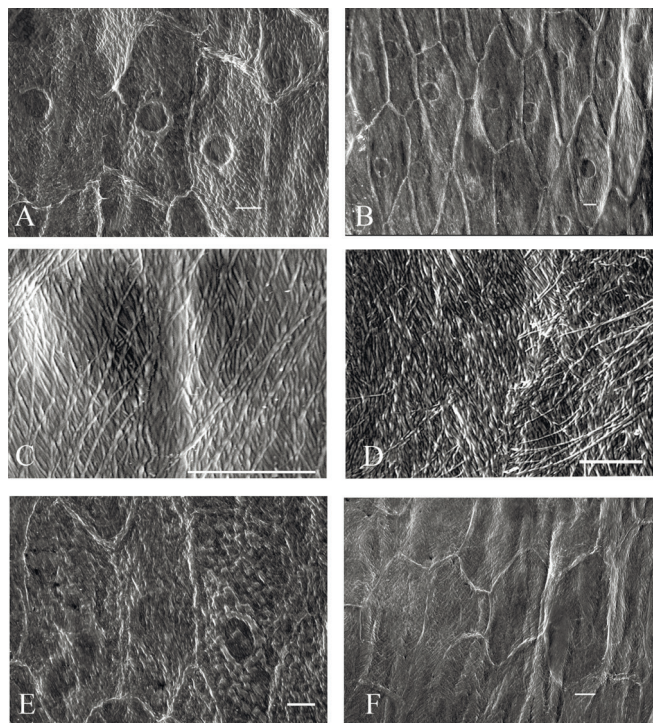


Fig. 6. Relief of the cuticular cells surface of the ramus of the Strigiformes primary remex: A – in *Bubo bubo*; B – in *Nyctea scandiaca*; C – in *Glaucidium passerinum*; D – in *Tyto alba*; E – in *Asio otus*; F – in *Surnia ulula*. Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: 10 μm)

expressed in *T. alba* (rarely encountered), *O. scops*, *O. sunia*, *S. aluco* (rarely encountered), *S. uralensis*, *S. nebulosa*, *S. ulula* (rarely encountered) (Fig. 6, *F*), and *A. funereus* (rarely encountered).

Thus, a comparative analysis of a strictly defined area of the cuticula, namely the distal lateral surface of the ventral part of ramus in the basal portion of barb, revealed a number of structural features of the cuticula in Strigiformes: elongated and longitudinally oriented cells with a smoothed fibrous relief of the surface, a presence of the thickened edges of cells in the majority of studied species, and specific slightly convex ring-shaped structures, the manifestation degree of which varies in different species of Strigiformes studied by us.

Microstructure of vanules. Vanules are a set of proximal barbules and distal barbules, branch out the ramus to both sides and uniformly distributed along the entire length of the ramus – not far from the point of attachment of the barb to the rachis, to its top (Fig. 1, *B*) [23, 29–31].

In Strigiformes, proximal barbules have in their structure elements typical for representatives of other groups of birds studied by us earlier: an extended base with a characteristic curved dorsal edge (dorsal flange) and a very elongated needle-like pennulum (Fig. 1, *D*). The proximal barbules tightly adjoin with each other in the basal part of the barb and in the medial part of the barb, and friably located in the distal part of the barb.

In the structure of the distal barbules in the Strigiformes, typical traits are the extended base and the subsequent pennulum – a thin elongated part of the distal barbule with a complex of free parts of keratinized cuticular cells: hooklets (Fig. 1, *k*) at the basal part of the pennulum on its lower – ventral – side, as well as thin outgrowths (dorsal cilia and ventral cilia) throughout the pennulum, including its apical part (Fig. 1, *E*).

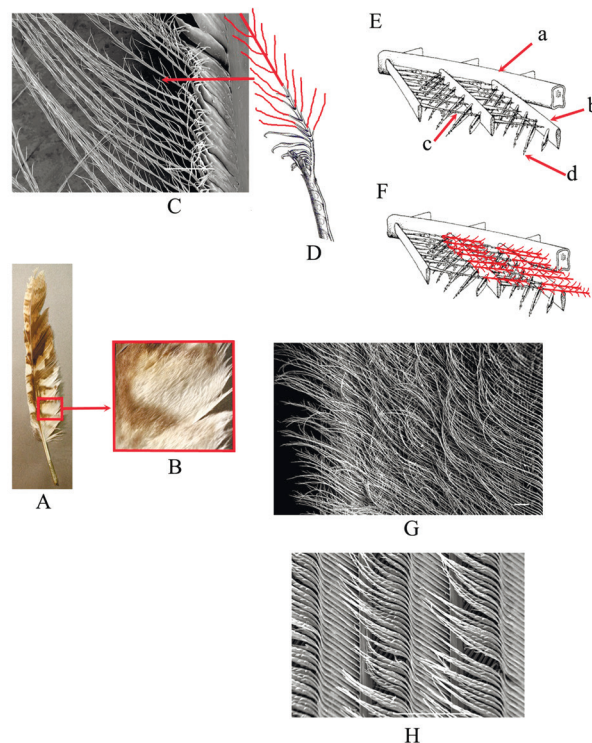


Fig. 7. Specific features in the microstructure of the distal barbules of Owls (Strigiformes) which make for the velvet-like dorsal surface of the inner vane of a primary remex: *A* – the whole primary remex of a Tawny Owl *Strix aluco*, a dorsal surface; *B* – segment of the velvet-like dorsal surface of the Tawny Owl *Strix aluco* primary remex inner vane; *C* – distal barbules with numerous hairlike cilia of a Little Owl *Athene noctua* primary remex inner vane; *D* – distal barbules; the elongated pennulum with hairlike cilia is shown in the red (adapted from [23]); *E* – scheme of a segment of a contour feather inner vane; the pennulums of distal barbules are not elongated: *a* – rachis; *b* – ramus; *c* – distal barbules; *d* – proximal barbules (adapted from [38]); *F* – scheme of a segment of the Owls (Strigiformes) contour feather inner vane; the aggregate of the elongated pennulums forms the thick velvet-like dorsal surface of the inner vane; it is represented by red (adapted from [38]). Microstructure of the primary remex inner vane dorsal surface: *G* – thick velvet-like dorsal surface of the Owls (Strigiformes) inner vane (Tawny Owl *Strix aluco*); *H* – non-velvety dorsal surface of the inner vane (Short-Toed Snake Eagle *Circaetus gallicus*). Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: *C*, *G* – 100 μm ; *H* – 1 μm

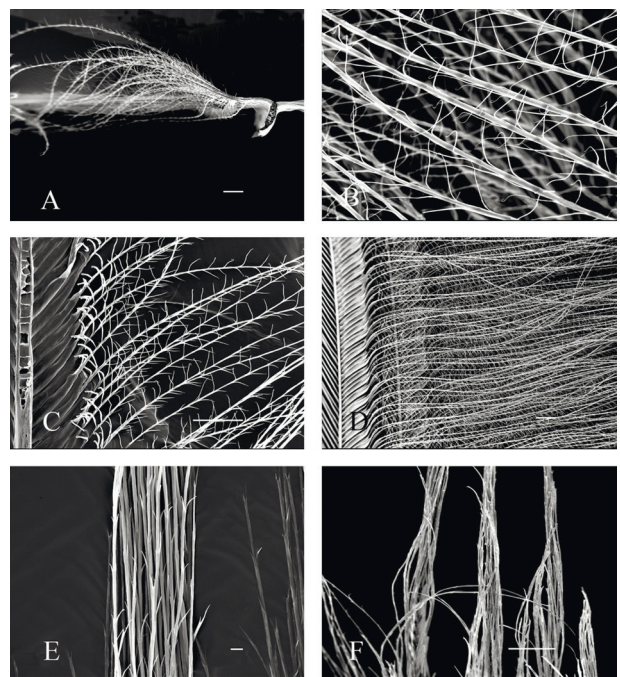


Fig. 8. Microstructure of the pennaceous barb vanules of the Strigiformes primary remex inner vane: *A* – segment of a pennaceous barb with distal barbules (*Strix nebulosa*); *B* – in *Tyto alba*; *C* – in *Surnia ulula*; *D* – the dense fleecy structure of the primary remex vane dorsal surface (*Strux aluco*); *E* – barb apical section elongate proximal barbules and the distal barbules closed together (*Surnia ulula*); *F* – cleft edge of the primary remex inner vane (*Glaucidium passerinum*). Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A, scale: *B*, *E* – 10 μm ; *A*, *C*–*D*, *F* – 100 μm)

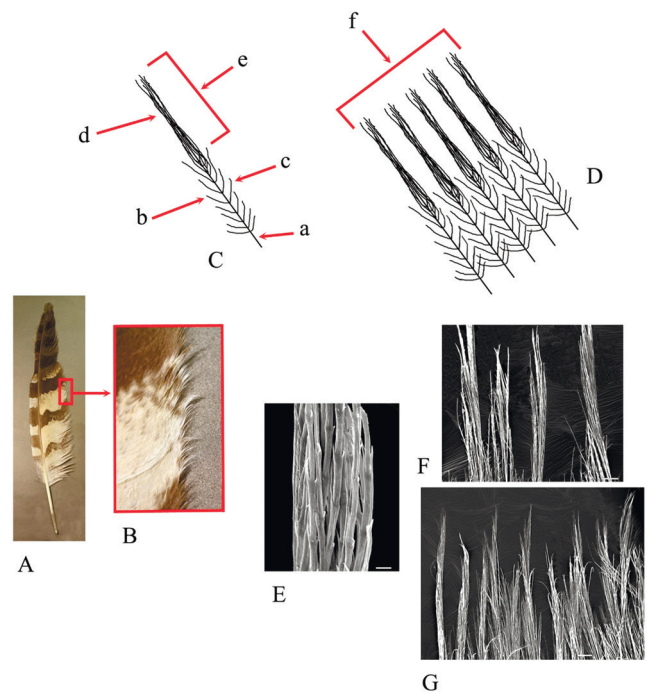


Fig. 9. Specific features in the microstructure of the barbs of Owls (Strigiformes) which make for the cleft edge of the inner vane of a primary remex: *A* – whole primary remex of a Great Grey Owl *Strix nebulosa*, a dorsal surface; *B* – cleft edge of the Great Grey Owl *Strix nebulosa* primary remex inner vane, a dorsal surface; *C* – “bunch” in the distal part of the barb (*a* – ramus; *b* – distal barbules; *c* – proximal barbules; *d* – elongated tightly closed barbules in the distal part of the barb; *e* – “bunch”); *D* – row of “bunches” forms the cleft edge of the inner vane (*f* – cleft edge of the inner vane). Microstructure of the Owls (Strigiformes) primary remex inner vane dorsal surface: *E* – elongated tightly closed barbules in the distal part of the barb (Eurasian Pygmy Owl *Glaucidium passerinum*); cleft edge of the inner vane: *F* – in Great Grey Owl *Strix nebulosa*; *G* – in Northern Hawk-Owl *Surnia ulula*. Scanning electron micrographs (microscope JEOL-840A; scale: *E* – 10 μm ; *F*, *G* – 100 μm)

A specific feature in the structure of the distal barbules of the Strigiformes is a very elongated pennulum with numerous well-developed hairlike cilia (Fig. 7; Fig. 8, A–C), which make for, as a whole, the thick velvet-like dorsal surface of the vane of a primary remex (Fig. 7; Fig. 8, D).

Due to the tight adjoining highly elongated barbules to each other and to the apical portion of the ramus, the distinctive “bunch”, also known as a fringe [17, 19, 22], is formed (Fig. 8, E; Fig. 9, C, E). A row of these “bunches” forms the cleft edge (Fig. 8, F; Fig. 9, f, F, G), also known as fringes [17, 19, 22], of the inner vane, well expressed in all species of Strigiformes studied by us. At the same time, the degree of the cleavage of the edge of the inner vane in *N. scandiaca* is less expressed than the other species studied by us, that which is consistent with the results of our previous studies [25, 26, 29, 30].

Discussion. The results obtained by us in the course of this comparative investigation of the microstructure of the Strigiformes primary remex are completely consistent with the results of our earlier studies of the microstructural features of the Strigiformes contour feather [25, 26, 29–31]. A number of microstructural characteristics of feathers detected in Strigiformes are also noted to varying degrees in other groups of birds examined by us [28, 36, 37]: an elongated, very flattened shape of the cross section of the basal part of the pennaceous barbs and a significant change in the configuration of the cross section of the overlying areas of barb; the barb medulla topography and structural diversity of the medullary chambers, including the presence of keratin filaments and pigment granules; a diversity in the structure of cuticular cells (shape, thickened edges, surface relief, the presence of slightly convex ring-shaped structures) and pronounced differences in the ornament of the cuticula relief in different parts of the ramus, including differences in the configuration of the cuticular cells of each of the two lateral surfaces of the ramus (distal and proximal), especially in the ventral part of the ramus.

It should be emphasized that, in Strigiformes, as well as in representatives of other bird groups studied by us, the identified microstructural characteristics of the feather significantly differ not only in different parts of one and the same barb, but also in barbs taken from different parts of the vanes [36].

A number of characteristics, identified as a result of a comparative investigation of the microstructure of the vanules of the primary remex pennaceous barb of Strigiformes, are unique and distinguish all Strigiformes from representatives of other bird groups.

First of all, this is the specificity of the distal barbules: a very elongated pennulum with numerous well-developed hairlike cilia located on it. The aggregate of the pennulums tightly contiguous to the proximal barbules and not intertwining with each other forms, as a whole, the thick velvet-like dorsal surface of the vane.

In the literature, there are little mentions of the velvet-like dorsal surface of the vane of a primary remex of Strigiformes, and there is no description of the microstructural features of the distal barbules that cause this velvet-like structure. Usually, the characteristic of a feather structure in Strigiformes is limited to the phrases that “the plumage is soft, friable, fluffy; remiges are relatively soft, velvety” [39], “remiges of Owls are relatively soft” [2], “fluffy surface of the plumage” [40], “softness of the contour feathers” [4]. Besides that, it is noted that the Snowy Owl and the Northern Hawk-Owl, “compelled to hunt in conditions of the white nights or the polar day”, as well as Little Owls and Pygmy-Owls, have “tough a plumage, as in raptors” [2].

The presence of the velvet-like dorsal surface of the vane was recorded only in the Barn Owl [17–22]. According to our data, the thick velvet-like dorsal surface of the vane is characteristic of all studied species of Strigiformes, including a Snowy Owl, a Northern Hawk-Owl, a Boreal Owl, a Little Owl, and a Eurasian Pygmy Owl and significantly differs from the smoothed dorsal surface of the vane in representatives of raptors (Fig. 7, H).

The presence of the cleft edge of the primary remex inner vane of Strigiformes is a well-known fact. The adaptive nature of the cleft edge of the inner vane of Strigiformes, associated with their noiseless flight in the night-time, is proved [17–22]. Nevertheless, the microstructure of the cleft edge of the inner vane – at the SEM level – has not yet been examined in detail.

Our investigation fills up this gap. Identified features in the structure of the cleft edge of the primary remex inner vane of the studied species of Strigiformes, introduce essential corrections to the question about the formation of the fringes at the edge of the inner vane in Strigiformes.

Previously, it was erroneously noted that the fringes form where the tips of the barbs are separated due to a loss of hooklets on the hook radiates, which leads to unconnected barb ends [17, 19, 21, 22].

Our electron microscopic investigation of the microstructure of the fringed edge of the primary remex inner vane of Strigiformes, carried out using a scanning electron microscope, made it possible to investigate this question in detail and identified a number of the unique features in the microstructure of the vanules which make for the fringes at the edge of the inner vane in Strigiformes (the elongated barbules are tightly closed with each other and with the apical portion of the ramus and form the distinctive “bunch” (a fringe); a row of these “bunches” (fringes), in turn, forms the cleft edge (a fringed edge) of the inner vane) (Fig. 9).

In our opinion, the identified elements of the microstructure of the vanules of the primary remex pennaceous barb in Strigiformes – the most important functional element of the wing of birds – have an adaptive character associated with the features of specialization to the specific style of hunting in the night-time, in particular – with a noiseless flight. It is noteworthy that the degree of the cleavage of the edge of the vane in *N. scandiaca* is less pronounced than in other species of Strigiformes studied by us. Note that *N. scandiaca* is a unique predator capable, unlike most other species of Strigiformes, to hunt equally well at a night-time as well as at a day-time.

Conclusion. Thus, as a result of our comparative electron microscopic investigation of the microstructure of the primary remex of Strigiformes, a number of microstructural characteristics have been identified. These microstructural characteristics of the barb can be used in further studies on the comparative morphology of bird feathers. In this aspect, the configuration of the cross section, the structure of the medulla, the shape and relief of the surface of the cuticular cells are important.

The analysis showed that in Strigiformes, as well as in representatives of other bird groups studied by us, the identified microstructural characteristics of the feather significantly differ not only in different parts of one and the same barb, but also in barbs taken from different parts of the vanes.

A number of the characteristics revealed as a result of the carried out comparative research of the microstructure of the vanules of the primary remex pennaceous barb of Strigiformes are unique, distinguishing all Strigiformes from representatives of other groups of birds. First of all, these are the structural features of the distal barbules and the structure of the apical portion of the barb with the elongated proximal barbules and the distal barbules tightly contiguous to the ramus and closed with each other. Mentioned characteristics make for the thick velvet-like dorsal surface of the vane and the presence of a complex of peculiar “bunches” (fringes) forming the cleft edge (a fringed edge) of the inner vane – exceptionally specific feather features in Strigiformes which are not found more at any representatives of other bird groups investigated by us. The features of the microstructure of the vanules that we identified are the first detailed information on the morphology – at the SEM level – of the specific elements of the feather in Strigiformes, which are considered in modern literature [16–22] as structures that make for a noiseless flight. Apparently, the noted features of the microstructure of the vanules can be considered as eco-morphological adaptations keeping the basic structure of the feather and directed to the formation of specific aerodynamic effects of the wing of Strigiformes.

The results obtained provide witness that the identified basic specific characteristics of the primary remex microstructure of Strigiformes can be used to study the direction and dynamics of complex radiation of morphological and adaptational changes of the feather microstructure in the birds phylogenesis.

References

1. Il'ichev V. D., Bogoslovskaya L. S., Barsova L. I. Central sections of the auditory system of birds. Morpho-ecological analysis of the structure of the auditory nuclei of the medulla oblongata. *Zoologicheskii zhurnal* [Zoological journal], 1974, vol. 53, no. 9, pp. 1352–1362 (in Russian).
2. Pukinskii Yu. B. *The life of Owls*. Leningrad, Leningrad University Publishing House, 1977. 240 p. (in Russian).
3. Mikkola H. *Owls of Europe*. Carlton, T&D Poyse, 1983. 397 p.
4. Gavrilov E. I., Ivanchev V. P., Kotov A. A., Koshelev A. I., Nazarov Yu. N., Nechaev V. A., Numerov A. D., Priklonskii S. G., Pukinskii Yu. B., Rustamov A. K. *Birds of Russia and adjacent regions: Pterocletiformes, Columbiformes, Cuculiformes, Strigiformes*. Moscow, Nauka Publ., 1993. 400 p. (in Russian).
5. Duncan J. R. *Owls of the world: their lives, behavior and survival*. New York, Firefly Books, 2003. 319 p.
6. Duncan J. R. *Owls of the World*. New Holland Publishers. New South Wales, Australia, Chatswood, 2016. 240 p.

7. But'ev V. T., Zubkov N. I., Ivanchev V. P., Koblik E. A., Kovshar' A. F., Kotyukov Yu. V. [et al.]. *Birds of Russia and adjacent regions: Strigiformes, Caprimulgiformes, Apodiformes, Coraciiformes, Upupiformes, Piciformes*. Moscow, KMK Scientific Publishing Partnership, 2005. 487 p. (in Russian).
8. Volkov S. V., Sharikov A. V., Morozov V. V. (eds). *Owls of the Northern Eurasia*. Moscow, 2005. 472 p. (in Russian).
9. Volkov S. V., Sharikov A. V., Morozov V. V. (eds). *Owls of the Northern Eurasia: Ecology, spatial and habitat distribution*. Moscow, 2009. 304 p. (in Russian).
10. Wink M., El-Sayed A.-A., Sauer-Gürth H., Gonzalez J. Molecular phylogeny of owls (Strigiformes) inferred from DNA sequences of the mitochondrial cytochrome b and the nuclear RAG-1 gene. *Ardea*, 2009, vol. 97, no. 4, pp. 581–591. <https://doi.org/10.5253/078.097.0425>
11. König C., Weick F., Becking J. *Owls of the world. 2nd ed.* London, Christopher Helm, 2011. 528 p.
12. Romulo C. L. *Geodatabase of global owl species and owl biodiversity analysis*. Falls Church, Virginia, Virginia Polytechnic Institute and State University, Master of Natural Resources Capstone Paper, 2012. 53 p.
13. Koch U. R., Wagner H. Morphometry of auricular feathers of Barn Owls (*Tyto alba*). *European Journal of Morphology*, 2002, vol. 40, no. 1, pp. 15–21. <https://doi.org/10.1076/ejom.40.1.15.13957>
14. Lin W.-L., Lin S.-M., Tseng H.-Y. Colour morphs in the Collared Pygmy Owl *Glaucidium brodiei* are age-related, not a polymorphism. *Ardea*, 2014, vol. 102, no. 1, pp. 95–99. <https://doi.org/10.5253/078.102.0115>
15. Charter M., Leshem Y., Izhaki I., Roulin A. Pheomelanin-based colouration is correlated with indices of flying strategies in the Barn Owl. *Journal of Ornithology*, 2015, vol. 156, no. 1, pp. 309–312. <https://doi.org/10.1007/s10336-014-1129-6>
16. Sarraj E., Fritzsche C., Geyer T. Silent owl flight: bird flyover noise measurements. *AIAA Journal*, 2011, vol. 49, no. 4, pp. 769–779. <https://doi.org/10.2514/1.j050703>
17. Bachmann T., Wagner H., Tropea C. Inner vane fringes of barn owl feathers reconsidered: morphometric data and functional aspects. *Journal of Anatomy*, 2012, vol. 221, no. 1, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2012.01504.x>
18. Klän S., Burgmann S., Bachmann T., Klaas M., Wagner H., Schröder W. Surface structure and dimensional effects on the aerodynamics of an owl-based wing model. *European Journal of Mechanics – B/Fluids*, 2012, vol. 33, pp. 58–73. <https://doi.org/10.1016/j.euromechflu.2011.12.006>
19. Winzen A., Roidl B., Klän S., Klaas M., Schröder W. Particle-image velocimetry and force measurements of leading-edge serrations on owl-based wing models. *Journal of Bionic Engineering*, 2014, vol. 11, no. 3, pp. 423–438. [https://doi.org/10.1016/s1672-6529\(14\)60055-x](https://doi.org/10.1016/s1672-6529(14)60055-x)
20. Sagar P., Teotia P., Sahlot A. D., Thakur H. C. An analysis of silent flight of owl. *Materials Today: Proceedings*, 2017, vol. 4, no. 8, pp. 8571–8575. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.07.204>
21. Weger M., Wagner H. Morphological variations of leading-edge serrations in owls (strigiformes). *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 3, p. e0149236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149236>
22. Weger M., Wagner H. Distribution of the characteristics of barbs and barbules on barn owl wing feathers. *Journal of Anatomy*, 2017, vol. 230, no. 5, pp. 734–742. <https://doi.org/10.1111/joa.12595>
23. Lucas A. M., Stettenheim P. R. *Avian anatomy. Integument. Agriculture handbook 362*. Washington, D. C., U. S. Government Printing Office, 1972. 340 p.
24. Stettenheim P. R. Structural adaptations in feathers. *Proceedings of the 16th International Ornithological Congress*. Canberra, Australia, 1976, pp. 385–401.
25. Fadeeva E. O. Adaptability particularities of the snowy owl's (*Nyctea scandiaca*) contour feather microstructure. *Vestnik Moskovskogo gorodskogo pedagogicheskogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series Natural Sciences], 2011, no. 2, pp. 52–59 (in Russian).
26. Fadeeva E. O. Features of the fine structure of remex of owls (*Strigiformes*), due to the specifics of flight. *Vestnik Moskovskogo gorodskogo pedagogicheskogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series Natural Sciences], 2014, no. 4, pp. 32–38 (in Russian).
27. Fadeeva E. O. Diagnostic possibilities of the birds contour feather on the basis of its microstructure. *Vestnik Moskovskogo gorodskogo pedagogicheskogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series Natural Sciences], 2015, no. 4, pp. 67–77 (in Russian).
28. Fadeeva E. O., Babenko V. G. The diagnostic potential of primary remex microstructure in rare species of falcons (*Falconidae*). *Teoriya i praktika sudebnoi ekspertizy* [Forensic theory and practice], 2017, vol. 12, no. 3, pp. 97–104 (in Russian).
29. Fadeeva E. O. Fine structure of the primary remex of owls (strigiformes). *Zoologicheskii zhurnal* [Zoological journal], 2018, vol. 97, no. 8, pp. 1075–1086 (in Russian).
30. Fadeeva E. O. Microstructure of the Primary Remex of Owls (Strigiformes). *Biology Bulletin*, 2019, vol. 46, no. 7, pp. 780–789. <https://doi.org/10.1134/S1062359019070045>
31. Fadeeva E. O., Babenko V. G. Microstructure of the common barn owl (*Tyto alba* Scopoli, 1769) remex. *Byulleten' Moskovskogo obshchestva ispytatelei prirody. Otdel biologicheskii* [Bulletin of the Moscow Society of Naturalists. Biological department], 2016, vol. 121, no. 6, pp. 18–24 (in Russian).
32. Dickinson E. C. (ed.). *The Howard and Moore Complete Checklist of the Birds of the World. Third Edition*. Princeton, NJ, Princeton University Press, 2003. 1039 p.
33. Verschiedene Federn mit Fahne. *DUDEN Wörterbuch*. Available at: https://cdn.duden.de/_media_/full/F/Fahne-201100278768.jpg (accessed 09.11.2020).
34. Yablokov A. V., Valetskii A. V. Variability of feather structure and egg coloration in some birds. *Zoologicheskii zhurnal* [Zoological journal], 1972, vol. 51, no. 2, pp. 248–258 (in Russian).

35. Kostina G. N., Sokolov V. E., Romanenko E. V., Sidorova T. N., Tarchevskaya V. A., Chernova O. F. Hydrophobic capacity of feather elements in penguins (Aves, Sphenisciformes). *Zoologicheskii zhurnal* [Zoological journal], 1996, vol. 75, no. 2, pp. 237–248 (in Russian).
36. Fadeeva E. O. Fine structure particularities of white-tailed eagles'' (*Haliaeetus albicilla*) primary remexes. *Vestnik Moskovskogo gorodskogo pedagogicheskogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Bulletin of the Moscow City Pedagogical University. Series Natural Sciences], 2013, no. 2, pp. 28–36 (in Russian).
37. Fadeeva E. O., Chernova O. F. Peculiarities of the contour feather microstructure in Corvidae family. *Izvestiya Rossiiskoi akademii nauk. Seriya biologicheskaya* [Bulletin of the Russian Academy of Sciences. Biological series], 2011, vol. 4, pp. 436–446 (in Russian).
38. Schmied H. *Die wasserspeichernden Federn der Flughühner (Pteroclididae): Funktionsmorphologie, Benetzungseigenschaften, technischer Nachbau*, 2014. Available at: <http://hss.ulb.uni-bonn.de/2014/3496/3496.pdf> (accessed 09.11.2020).
39. Kartashev N. N. *Systematics of Birds*. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1974. 367 p. (in Russian).
40. Sokolov V. E., Il'ichev V. D. (eds.). *Fauna of the World. Birds*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1991. 298 p. (in Russian).

Информация об авторе

Фадеева Елена Олеговна – канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник. Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН (Ленинский проспект, 33, 119071, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: vgbabenko@gmail.com

Information about the author

Elena O. Fadeeva – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Senior Researcher. A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences (33, Leninsky Prospect, 119071, Moscow, Russian Federation). E-mail: vgbabenko@gmail.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 635.92:582.998.2

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-247-252>

Поступила в редакцию 03.09.2020

Received 03.09.2020

С. В. Цеханович

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОПЫТ ИНТРОДУКЦИИ СОРТОВ ХРИЗАНТЕМЫ КОРЕЙСКОЙ (*CHRYSANTHEMUM COREANUM*) УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ В ЦЕНТРАЛЬНОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ НАН БЕЛАРУСИ

Аннотация. Целью исследований являлась первичная комплексная оценка биологических и декоративных показателей сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum* (H. Lév. & Vaniot) Nakai ex T. Mori) украинской селекции Национального ботанического сада (НБС) имени Н. Н. Гришко НАН Украины для определения возможности их использования для цветочного (в том числе контейнерного) оформления городов и других населенных пунктов Беларуси.

Фенологические наблюдения проводили на протяжении всех вегетационных периодов с 2010 по 2020 г. Для определения типов соцветий хризантем использовали общепринятую классификацию, разработанную Дрезденским институтом садоводства (Clauss, 1960); для первичной комплексной оценки сортов хризантемы – модифицированную методику сортооценки ЦБС НАН Беларуси, основанную на определении 11 биологических и декоративных показателей: устойчивости окраски соцветия, количество соцветий на одном побеге, высота и форма растения, облиственность побега (стебля), зимостойкость, устойчивость к болезням и вредителям, вегетативная подвижность, ежегодная стабильность цветения, продолжительность цветения, долголетие в культуре.

Изучение интродукции сортов хризантемы селекции НБС им. Н. Н. Гришко коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси показало, что исследованные сорта характеризуются устойчивой ритмикой сезонного роста и развития. Большинство из них проходят все стадии сезонного развития в течение вегетационного периода, что свидетельствует об успешной адаптации этих сортов к климатическим условиям Беларуси. Дана первичная комплексная оценка 76 сортам хризантемы корейской. Отобран 31 сорт хризантемы, который можно рекомендовать для цветочного оформления городов и населенных пунктов Беларуси.

Ключевые слова: хризантема корейская, интродукция, комплексная оценка, озеленение

Для цитирования: Цеханович, С. В. Опыт интродукции сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*) украинской селекции в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси / С. В. Цеханович // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бйял. навук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 247–252. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-247-252>

Sviatlana V. Tsekhanovich

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

EXPERIENCE OF INTRODUCTION OF *CHRYSANTHEMUM COREANUM* VARIETIES OF UKRAINIAN BREEDING IN CENTRAL BOTANICAL GARDEN OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

Abstract. The main goal was primary comprehensive assessment of the biological and decorative indicators of varieties of chrysanthemum (*Chrysanthemum coreanum* (H. Lév. & Vaniot) Nakai ex T. Mori), ukrainian selection of National Botanical Garden named after N. N. Grishko, for definition the possibility of their using for flower decoration of cities and other settlements of Belarus.

Phenological observations were carried out during all vegetation periods from 2010 to 2020. The types of inflorescences of chrysanthemums were classified according to the generally accepted classification, which was developed for the chrysanthemum by the Dresden Institute of Horticulture (Clauss, 1960). Primary comprehensive assessment of chrysanthemum varieties was carried out according to the modified method of varietal assessment of the Central Scientific Center of the National Academy of Sciences of Belarus, which based on 11 biological and decorative indicators: color stability of the inflorescence, number of inflorescences on one shoot, height and shape of the plant, leafiness of the shoot (stem), winter hardiness, resistance to diseases and pests, vegetative mobility, annual stability of flowering, duration of flowering, longevity in culture.

In article are given the results of the introduction of varieties of chrysanthemum breeding NBG named after N. N. Grishko collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. Primary comprehensive assessment of 76 varieties of Korean chrysanthemum. The 31 varieties of chrysanthemums were selected, which can be recommended for flower decoration of cities and towns of Belarus.

Thus, investigated varieties of Korean chrysanthemum, breeding NBS named after N. N. Grishko, characterized by a steady rhythm of seasonal growth and development. The majority varieties is going through all stages of seasonal development during the growing season, which indicates their successful adaptation to the climatic conditions of Belarus.

Keywords: korean chrysanthemum, introduction, comprehensive assessment, planting of greenery

For citation: Tsekhanovich S. V. Experience of introduction of *Chrysanthemum coreanum* varieties of Ukrainian breeding in Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 247–252 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-247-252>

Введение. Хризантема корейская (*Chrysanthemum coreanum* (H. Lév. & Vaniot) Nakai ex T. Mori) относится к многолетним цветочным растениям летне-осеннего срока цветения и является одной из ведущих культур декоративного садоводства. В результате многовековой работы селекционеров разных стран к настоящему времени выведено несколько тысяч сортов хризантем, которые отличаются достаточно высоким адаптационным потенциалом, продолжительным периодом цветения, неприхотливостью при выращивании. При создании новых сортов хризантем у каждой страны имеются свои предпочтения в выборе формы соцветия. Так, в Америке популярны сорта с анемоновидными соцветиями, в Германии чаще используют каскадные формы мелкоцветковых хризантем, в Англии отдают предпочтение крупноцветковым хризантемам с шаровидными и полушаровидными соцветиями, а в Японии и Китае – растениям с паукovidными и лучевидными формами. Во Франции выращивают контейнерные культуры хризантем, а в Голландии, где их выращивают в основном для срезки, популярны сорта как с крупноцветковыми, так и с мелкоцветковыми соцветиями.

Работы с сортами хризантемы корейской в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (ЦБС НАН Беларуси) ведутся с середины прошлого века. Так, первые сорта хризантемы были привлечены в 1965 г. в состав коллекции «Малораспространенные многолетние цветочные растения», а в 1981 г. коллекция «Хризантемы» ЦБС НАН Беларуси включена в Государственный реестр ботанических коллекций Республики Беларусь.

Пополнение коллекционного фонда «Хризантемы» происходит за счет интродукции новых зарубежных сортов, наиболее приспособленных к местным почвенно-климатическим условиям. В настоящее время в коллекции находится около 200 интродуцированных сортов хризантемы корейской, которые обладают различной формой и окраской соцветий, габитусом куста, сроками цветения. Наиболее многочисленно представлены сорта селекции Национального ботанического сада (НБС) им. Н. Н. Гришко НАН Украины, оригинаторами которых являются Н. М. Дудик, Е. Д. Харченко, В. Ф. Горобец, Л. И. Завидова.

Целью нашей работы было оценить биологические и декоративные особенности интродуцированных сортов хризантемы корейской селекции Национального ботанического сада им. Н. Н. Гришко и выделить сорта, пригодные для использования в озеленении населенных пунктов Беларуси.

Материалы и методы исследования. Объектом изучения послужили 76 сортов хризантемы корейской селекции НБС им. Н. Н. Гришко из коллекционного фонда ЦБС НАН Беларуси. Растения выращивали в соответствии с требованиями культуры, на открытом солнечном участке, согласно общепринятой методике [1]. Фенологические наблюдения велись на протяжении вегетационных периодов с 2010 по 2020 г. по показаниям, соответствующим данному виду растений. Типы соцветий хризантем разделяли по общепринятой классификации, разработанной Дрезденским институтом садоводства (Clauss, 1960) [2].

Сорта хризантемы, рекомендуемые для использования в промышленном озеленении Беларуси, оценивали по модифицированной методике комплексной сортооценки ЦБС НАН Беларуси [3]. Перспективность сортов хризантемы, пригодных для озеленения, отбирали по 11 биологическим и декоративным показателям, которые отражают жизнеспособность и декоративность растений в условиях культивирования: устойчивость окраски соцветия, количество соцветий на одном побеге, высота и форма растения, облиственность побега (стебля), зимостойкость, устойчивость к болезням и вредителям, вегетативная подвижность, ежегодная стабильность цветения, продолжительность цветения, долголетие в культуре. Каждый показатель оценивали по

3-балльной шкале. Сорта, получившие 27 баллов и выше, отнесены к очень перспективным, с суммой 19–26 баллов – к перспективным, оцененные ниже 19 баллов – к малоперспективным.

Результаты и их обсуждение. В коллекции ЦБС НАН Беларуси сорта хризантем селекции киевских селекционеров разделены по основному признаку соцветий на 7 классов (классификация Клауса): простые немахровые, полумахровые, анемоновидные, махровые – плоские, полусаровидные, лучевидные, помпонные. Их размер колеблется от 2,5 см (Бурштинове Намисто, Крихітка) до 10 см (Пектораль, Промениста, Роксель, Сонечко, Шапка Мономаха) в диаметре. Сорта очень разнообразны по окраске – белые, розовые, сиреневые, пурпурные, красные, многочисленные оттенки желтого и оранжевого цветов. Особую ценность представляют низкорослые сорта (высотой до 50 см) с высокими декоративными качествами: компактные обильноцветущие кусты с устойчивой окраской соцветий и продолжительным цветением (Бужковий Рай, Золота Амфора, Калиновий Гай, Колобок, Сонечко, Україночка и др.), которые можно использовать и как контейнерную культуру.

Работа украинских селекционеров направлена в первую очередь на получение оригинальных сортов с анемоновидными, игольчатыми и ромашковидными соцветиями и компактной формой куста, которые пригодны для создания бордюров, отдельных групп и контейнерной культуры [4, 5]. Однако при выращивании в условиях Беларуси некоторые из исследуемых сортов оказываются неприспособленными к климатическим условиям нашей страны из-за снижения их декоративности, а самое главное – из-за поздних сроков цветения.

Фенологические наблюдения за особенностями сезонного роста и развития украинских сортов хризантемы показали, что их отрастание начинается с середины апреля при среднесуточной температуре 8–14 °С. Активный вегетативный рост растений отмечается с середины мая при среднесуточной дневной температуре около 15–20 °С [6, 7].

Важным этапом в сезонном развитии растений является цветение. В зависимости от сроков цветения исследуемые сорта хризантемы были включены в следующие фенологические группы: с очень ранним сроком цветения, зацветающие со второй декады июня (Золотоволоска);

с «ранним» сроком цветения, зацветают в третьей декаде июля (Бархан, Вродлива, Журавлинка, Золоте Руно, Крижинка, Купава, Осеннее Изобилие);

со средним сроком цветения, зацветающие во второй декаде августа (Білосніжка, Біла Альтанка, Біла Анемона, Віденський Бал, Дружна Сімейка, Жар Пустелі, Жемчужная, Заграва, Золота Амфора, Золотая Осень, Золотий Дукат, Золушка, Калиновий Гай, Киевлянка, Клеопатра, Космічна, Козачка, Лелія, Лето, Метеорит, Нова Ера, Осінній Блюз, Пектораль, Перлинка, Пісня Полонини, Полумя, Промениста, Ранковий Міраж, Роксель, Скіфське Золото, Сонечко, Стріли Амура, Секі, Сутінки, Україночка, Яблуневий Цвіт);

со среднепоздним сроком цветения, зацветающие во второй декаде сентября (Бужковий Рай, Вечірня Симфонія, Гранатовий Браслет, Два Кольори, Дикий Мед, Дніпровські Далі, Зарічанка, Кармен, Київська Красуня, Колобок, Кнопа, Крихітка, Оксамитка, Память Матери, Перстень Королеви, Полтавський Сувенір, Умка, Хрустальна, Шапка Мономаха, Чарівна Флейта);

с поздним сроком цветения, зацветающие в начале или во второй половине октября (Бурштинове Намисто, Вечорниці, Дюймовочка, Іней, Загадка Осені, Звездопад, Зірниця, Зоряна Ніч, Казкова Втіха, Меланхолійний Вальс, Соковитий Бісер, Чарівний Сон).

Один из основных показателей для использования растений в озеленении – продолжительность их массового цветения. Сравнительный анализ данных фенологических наблюдений показал, что в местных условиях наибольшая продолжительность массового цветения (более 50 дней) присуща сортам со средним сроком цветения. Сорта хризантем с очень ранним и ранним сроками цветения массово цветут в среднем 20–25 дней. Цветение среднепоздних сортов составляет не более 10–15 дней и нередко прерывается заморозками. В климатических условиях Беларуси сорта с поздним сроком цветения часто не успевают достигнуть стадии массового цветения и раскрыть весь свой декоративный потенциал из-за ранних заморозков. Полноценное цветение данных сортов возможно только в годы с теплой продолжительной осенью. Таким образом, сорта среднепозднего и позднего сроков цветения являются малоперспективными для использования их в озеленении населенных пунктов Беларуси.

Декоративность сорта определяется также и устойчивостью окраски соцветия. Часто под действием метеорологических факторов первоначальная окраска цветков может меняться в худшую сторону: соцветия быстро выгорают на ярком солнце или блекнут во время дождей, что приводит к снижению декоративности растений. Было отмечено, что среди растений с устойчивой окраской преобладают сорта в основном среднего и среднепозднего сроков цветения – Білосніжка, Бузковий Рай, Бурштинове Намисто, Гранатовый Браслет, Два Кольоры, Дніпровські Далі, Заграва, Звездопад, Золота Амфора, Золотая Осень, Золотий Дукат, Калиновий Гай, Космічна, Лелія, Метеорит, Память Матери, Пектораль, Перстень Королеви, Перлінка, Промениста, Ранковий Міраж, Роксель, Скіфське Золото, Сонечко, Україночка. Они оценены 3 баллами. Оценку 1–2 балла получили сорта Журавлінка, Лето, Клеопатра, Нова Эра, Пісня Полонини, Полумя, Секі, Сутінки. у которых окраска соцветий неустойчива к неблагоприятным погодным условиям.

Основным признаком, определяющим обилие цветения, а следовательно, и декоративность растения, является количество соцветий на одном побеге. Наибольшее количество соцветий характерно для сортов Білосніжка, Вродлива, Гранатовый Браслет, Два Кольоры, Дружна Сімейка, Дюймовочка, Заграва, Золота Амфора, Золотая Осень, Золотий Дукат, Золотоволоска, Золушка, Крижинка, Калиновий Гай, Космічна, Крихітка, Куपाва, Лелія, Метеорит, Перлінка, Промениста, Память Матери. Им была дана максимальная оценка – 3 балла. Сорта с небольшим количеством соцветий были оценены 1–2 баллами – Вечірня Симфонія, Вечорниці, Журавлінка, Київська Красуня, Меланхолійний Вальс, Оксамитка, Сонечко.

У некоторых сортов хризантемы в климатических условиях Беларуси сроки цветения и обилие цветения нестабильны и изменяются в зависимости от температурных условий летнего сезона. Так, у некоторых сортов (Вечірня Симфонія, Дикий Мёд, Іней, Жемчужная, Журавлінка, Заграва, Зоряна Ніч, Київська Красуня, Козачка, Кнопа, Колобок, Лето, Оксамитка, Сонечко, Сутінки, Перстень Королеви, Полтавський Сувенір, Чарівна Флейта) в засушливые вегетационные периоды с высокой температурой наблюдаются уменьшение количества бутонов и задержка цветения на 10–16 дней и более [8]. Из ежегодно стабильно цветущих отметим такие сорта, как Білосніжка, Віденський Бал, Вродлива, Дружна Сімейка, Золота Амфора, Золотий Дукат, Золотоволоска, Золоте Руно, Роксель, Кармен, Космічна, Крихітка, Крижинка, Лелія, Метеорит, Перлінка, Пектораль, Промениста, Роксель, Скифське Золото, Стріли Амура, Україночка.

В годы с дождливым летним сезоном хризантемы часто поражаются болезнями, что заметно снижает их декоративность. Самыми распространенными патогенами являются виды рода *Fusarium* sp., которые у хризантем вызывают хлороз и усыхание листьев, повреждают соцветия, что сказывается на цветении растений. Для элиминирования грибной инфекции пораженные растения необходимо несколько раз за вегетативный сезон обрабатывать химическими защитными препаратами, что запрещено в условиях города. В то же время нами выявлены сорта с достаточно высокой устойчивостью к болезням (оценены 3 баллами) – Білосніжка, Вродлива, Гранатовый Браслет, Дніпровські Далі, Золотоволоска, Оксамитка, Космічна, Пектораль, Промениста, Роксель, Скифське Золото. К числу наиболее восприимчивых к заражению фитомикозами можно отнести сорта Вечірня Симфонія, Дикий Мёд, Загадка Осені, Зірниця, Крижинка, Крихітка, Метеорит, Оксамитка, Пісня Полонини, Полумя, Ранковий Міраж, Секі. Их устойчивость оценена в 1–2 балла.

Погодные условия Беларуси в осенне-зимний период отличаются неустойчивостью (частое отсутствие снежного покрова, оттепели и затяжные дожди), что отрицательно сказывается на перезимовке хризантемы. Поэтому нами практикуется зимнее укрытие, защищающее почки растений от действия низких температур. В то же время в коллекции есть сорта, которые проявили высокую зимостойкость и не требуют укрытия. Это оцененные 3 баллами Білосніжка, Вечірня Симфонія, Вродлива, Гранатовый Браслет, Дикий Мёд, Дюймовочка, Заграва, Золота Амфора, Золотоволоска, Космічна, Крижинка, Осеннее Изобилие, Перлінка, Пектораль, Промениста, Ранковий Міраж, Роксель, Скифське Золото. Сорта Бурштинове Намисто, Вечорниці, Жар Пустелі, Журавлінка, Зоряна Ніч, Калиновий Гай, Киевлянка, Київська Красуня, Колобок, Кнопа, Меланхолійний Вальс, Перстень Королеви, Секі в климатический условиях Беларуси недостаточно зимостойки или совсем не зимуют, поэтому оценены 1–2 баллами.

Считается, что хризантема корейская может расти без пересадки, сохраняя декоративность, в течение 4–5 лет. Однако наши исследования показывают, что для некоторых сортов характерно снижение или потеря декоративности уже на второй год культивирования. Такие сорта (Вечірня Симфонія, Дикий Мёд, Загадка Осені, Колобок, Пісня Полонины, Ранковий Міраж), оцененные 1–2 баллами, требуют ежегодного омолаживания путем черенкования, что повышает материальные затраты на создание и поддержание цветника. Сорта, обладающие способностью сохранять декоративный эффект без пересадки более 3–4 лет (Білосніжка, Вродлива, Гранатовый Браслет, Золота Амфора, Золотоволоска, Золотий Дукач, Золушка, Космічна, Крихітка, Лелія, Пектораль, Промениста и др.) с увеличением продуктивности цветения, оценены в 3 балла.

Часто компактность куста хризантем сопряжена с его высотой – чем выше растение, тем меньше его компактность, что также ведет к снижению декоративности. Такие сорта требуют дополнительного ухода, что экономически не выгодно. Наши наблюдения показали, что максимальная высота кустов хризантем для цветников и бордюров не должна превышать 55 см. Поэтому сорта, которые соответствуют этому показателю (Біла Альтанка, Бузковий Рай, Вродлива, Віденський Бал, Дружна Сімейка, Жар Пустелі, Зоряна Ніч, Золота Амфора, Золотоволоска, Золотий Дукач, Калиновий Гай, Космічна, Клеопатра, Лелія, Метеорит, Нова Эра, Пектораль, Перлінка, Пісня Полонины, Полумя, Ранковий Міраж, Роксель, Секі, Сутінки, Україночка, Яблуневий Цвіт), оценены 3 баллами. У данных сортов была отмечена и высокая облиственность стеблей. В течение всего периода вегетации их стебли снизу доверху полностью покрыты листьями, образующими плотную массу по контуру куста. Такие сорта оценены 3 баллами.

Первичная комплексная оценка сортов селекции НБС им. Н. Н. Гришко показала, что наиболее высокую сумму баллов (27 и выше) получили следующие сорта хризантемы: Білосніжка, Бузковий Рай, Вродлива, Віденський Бал, Дружна Сімейка, Жар Пустелі, Заграва, Золота Амфора, Золотая Осень, Золотоволоска, Золотий Дукач, Золоте Руно, Золушка, Калиновий Гай, Космічна, Кнопа, Куपाва, Нова Эра, Лелія, Метеорит, Пектораль, Перлінка, Пісня Полонины, Промениста, Ранковий Міраж, Роксель, Скифське Золото, Сонечко, Україночка, Яблуневий Цвіт. Они относятся в основном к феногруппе среднего срока цветения и отличаются невысокими компактными кустами, устойчивыми к полеганию, обильным ежегодным и продолжительным цветением, зимостойкостью и устойчивостью к заболеваниям и вредителям. Данные сорта оценены нами как очень перспективные для выращивания в климатических условиях Беларуси.

Вывод. Таким образом, исследованные сорта хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*) селекции НБС им. Н. Н. Гришко характеризуются устойчивой ритмикой сезонного роста и развития. Большинство из них проходят все стадии сезонного развития в течение вегетационного периода, что свидетельствует об успешной адаптации этих сортов к климатическим условиям Беларуси. На основании комплексной сортооценки для цветочного (в том числе контейнерного) оформления городов и других населенных пунктов Беларуси можно рекомендовать 31 сорт хризантемы.

Список использованных источников

1. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР / отв. ред. П. И. Лапин. – М. : Патент, 1975. – 27 с.
2. Clauss, B. *Chrysanthemum* / B. Clauss. – Berlin : VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, 1960. – 114 S.
3. Цеханович, С. В. Методика комплексной оценки сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*), интродуцированных в Беларуси / С. В. Цеханович // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 33–39.
4. Горобец, В. Ф. Интродукционное сортоизучение мелкоцветковых хризантем / В. Ф. Горобец, Л. И. Завидова // Интродукция и акклиматизация растений : респ. межвед. сб. науч. тр. / Донец. ботан. сад. – Киев, 1987. – Вып. 8. – С. 40–43.
5. Горобец, В. Ф. Хризантемы відкритого ґрунту / В. Ф. Горобец. – Київ : Квіти України, 2003. – 43 с.
6. Дьяченко, Н. Г. Хризантемы корейские / Н. Г. Дьяченко. – М. : Изд. дом МСП, 2011. – 32 с.
7. Гулис, А. Л. Интродукция сортов хризантем селекции НБС им. Н. Н. Гришко в ЦБС НАН Беларуси / А. Л. Гулис // Интродукція, збереження та моніторинг рослинного різноманіття : матеріали міжнар. наук. конф. до 175-річчя Бот. саду ім. акад. О.В. Фоміна Київ. нац. ун-ту ім. Т. Шевченка (20–24 травня 2014 р., Київ) / Рада ботанічних садів та дендропарків України. – Київ, 2014. – С. 37–38.

8. Цеханович, С. В. Особенности роста и развития сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum*), интродуцированных в Беларуси / С. В. Цеханович // Вес. Нац. Акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 2. – С. 94–99.

References

1. Lapin P. I. (ed.). *Methods of phenological observations in the botanical gardens of the USSR*. Moscow, Patent Publ., 1975 (in Russian).
2. Clauss B. *Chrysanthemum*. Berlin, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, 1960. 114 S. (in Germany).
3. Tsekhanovich S. V. The technique of integrated assessment of varieties of korean chrysanthemum (*Chrysanthemum coreanum*), introduced in Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, no. 1, pp. 33–39 (in Russian).
4. Gorobets V. F., Zavidova L. I. Introduction variety study of small-flowered chrysanthemums. *Introduktsiya i akklimatizatsiya rastenii: respublikanskii mezhvedomstvennyi sbornik nauchnykh trudov. Tom 8* [Introduction and acclimatization of plants: republican interdepartmental collection of scientific papers. Vol. 8]. Kiev, 1987, pp. 40–43 (in Russian).
5. Gorobets V. F. *Chrysanthemums of open ground*. Kyiv, Kviti Ukraini Publ., 2003. 43 p. (in Ukrainian).
6. D'yachenko N. G. *Chrysanthemum korean*. Moscow, Publishing house SME, 2003. 32 p. (in Russian).
7. Gulis A. L. Introduction of varieties of chrysanthemums selection of N. N. Grishko in CBG NAS of Belarus. *Introduktsiya, zberezheniya ta monitoring roslinnogo riznomanitya: materialy mizhnarodnoi naukovoï konferentsii do 175-richchya Botanichnogo sadu imeni akad. O.V. Fomina Kiïvs'kogo natsional'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka (20–24 travnya 2014 r., Kiïv)* [Introduction, preservation and monitoring of plant diversity: materials of the International scientific conference dedicated to the 175th anniversary of the Botanical Garden named after Acad. O. B. Fomin Taras Shevchenko National University of Kyiv (May 20–24, 2014, Kyiv)]. Kyiv, 2014, pp. 37–38 (in Russian).
8. Tsekhanovich S. V. Features growth and development of korean chrysanthemum variety (*Chrysanthemum coreanum nakai*) introduced in Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 2, pp. 94–99 (in Russian).

Информация об авторе

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

Information about the author

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

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.14:631.8

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-253-256>

Поступила в редакцию 31.03.2020

Received 31.03.2020

И. М. Гаранович, Е. Д. Блинковский

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ЩЕЛОЧНОЙ ВЫТЯЖКИ БИОГУМУСА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ САЖЕНЦЕВ ДЕКОРАТИВНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Аннотация. Установлено, что щелочная вытяжка биогумуса оказывает положительное влияние на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений. При ее использовании высота саженцев туи западной низкой превосходила контроль на 19,0 %, длина корневых систем – на 13,3 %. У спирей серой эти показатели составили 18,6 и 50,0 %, у тиса ягодного – 9,0 и 23,1 % соответственно.

Ключевые слова: биогумус, саженцы, рост, развитие, древесные растения

Для цитирования: Гаранович, И. М. Влияние щелочной вытяжки биогумуса на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений / И. М. Гаранович, Е. Д. Блинковский // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 253–256. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-253-256>

Igor M. Garanovich, Evgeniy D. Blinkovskiy

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

THE IMPACT OF BIOHUMUS ALKALINE EXTRACT ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF SEEDLINGS OF ORNAMENTAL WOODY PLANTS

Abstract. The article describes the results of a study of the impact of biohumus alkaline extract on growth and development of woody plants seedlings. A positive impact has been found out. When biohumus alkaline extract is used, the height of *Thuja occidentalis* seedlings surpasses the target by 19.0 %, the length of root systems – by 13.3 %. These indexes for *Spiraea x cinerea* are 18.6 and 50.0 %, and for *Taxus baccata* – 9.0 and 23.1 % correspondingly.

Keywords: biohumus, seedlings, growth, development, wood plants

For citation: Garanovich I. M., Blinkovskiy E. D. The impact of biohumus alkaline extract on growth and development of seedlings of ornamental woody plants. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 253–256 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-253-256>

Введение. Биогумус (вермикомпост) – новое качественное органическое комплексное удобрение, являющееся продуктом переработки органических отходов популяцией дождевого червя «Старатель» [1]. Биологическая активность биогумуса определяется наличием гуминовых кислот, фульвокислот, витаминов, природных фитогармонов, микро- и макроэлементов в виде биодоступных органических соединений [2]. Существенное отличие биогумуса от других органических удобрений – повышенное содержание в нем водорастворимых форм азота, фосфора и калия. При этом микроэлементы также переходят в более подвижную форму [3, 4]. Как и все органические удобрения, вермикомпост улучшает структуру почвы и ее водно-физические свойства, что способствует повышению плодородия почвы и выращиванию экологически чистой продукции [5–7].

Цель исследования – изучить влияние щелочной вытяжки биогумуса на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений.

Материалы и методы исследования. Была заложена серия опытов по испытанию влияния жидкого биогумуса (щелочная вытяжка) на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений в соответствии с рекомендациями, предложенными в работе [8].

Объектами исследования были туя западная шаровидная (*Thuja occidentalis* ‘Nana’), ель колючая голубая (*Picea pungens* ‘Glauca’), спирея серая (*Spiraea* × *cinerea*), барбарис Тунберга (*Berberis thunbergii* ‘Atropurpurea’), тис ягодный (*Taxus baccata*). Двухлетние укорененные черенки высаживали в контейнеры объемом 3 л.

Варианты опыта: двукратная подкормка раствором биогумуса (щелочная вытяжка) из расчета 5 мл концентрата на 1 л воды на два растения; контроль – минеральная почва питомника.

Результаты и их обсуждение. Получение гуминовых препаратов из биогумуса путем щелочной обработки в растворе – это наиболее широко используемая технология последние 10–15 лет. Щелочная обработка исходных субстратов позволяет получить более концентрированные, чем при водной обработке, препараты, которые содержат в себе практически все компоненты (водорастворимые и щелочерастворимые) биогумуса: соли гуминовых и фульвокислот, аминокислоты, пептиды, витамины, антибиотики, гормоны роста и развития растений и другие продукты жизнедеятельности почвенных микроорганизмов и самих дождевых червей (вермиккультуры). Более того, щелочная обработка позволяет не только полностью извлекать из биогумуса все его компоненты, но и многократно усиливать физиологическую активность гуминовых кислот, переводя их в водорастворимые соли гуминовых кислот (гуматы натрия, калия или аммония). Эта технология является безотходной, так как осадок биогумуса после экстракции содержит в себе органоминеральную часть биогумуса и водонерастворимые гуматы кальция, железа, меди и других металлов. Этот осадок после подсушивания можно использовать как высокоценный компонент для почвосмесей (по технологическим регламентам лаборатории верми-технологий Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси).

Влияние жидкого биогумуса на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений представлено в таблице. Увеличение прироста составило 109–147 % к контролю. Наиболее существенным оно было у барбариса. Корневые системы больше других реагировали на удобрения у спиреи и барбариса (150 и 140 % соответственно). В среднем прирост составил 121,7 % к контролю, для корневых систем – 129,3 %. Следует указать на существенное увеличение количества корней. У большинства исследованных пород значительно повышается мочковатость корневой системы (см. рисунок).

Представляет интерес сравнение высоты растений и длины корневых систем с исходными данными. Так, прирост составил от 25,0 % у туи до 108,3 % у барбариса, в то время как в контрольном варианте – только 5,0 и 75,0 % соответственно. Наиболее активен рост у барбариса и спиреи.

Корневые системы были длиннее, чем у исходных опытных образцов, на 33–145 % (в контроле на 8,3–50 %), особенно у барбариса и спиреи. В наименьшей степени реагировали на подкормку туя, тис, ель.

**Влияние жидкого биогумуса (щелочная вытяжка)
на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений**
**The impact of liquid biohumus (alkaline extract)
on growth and development of seedlings of ornamental woody plants**

Таксон	Вариант	Длина, см			
		Побеги	% к контролю	Корневая система	% к контролю
Тис ягодный	Контроль	27,5 ± 2,0	109,0	19,5 ± 1,7	123,1
	Опыт	30,0 ± 2,2		24,0 ± 1,9	
Ель колючая голубая	Контроль	18,0 ± 1,6	122,2	15,0 ± 1,3	120,0
	Опыт	22,0 ± 1,9		18,0 ± 1,6	
Барбарис Тунберга краснолистный	Контроль	17,0 ± 1,4	147,1	15,0 ± 1,2	140,0
	Опыт	25,0 ± 2,0		21,0 ± 1,8	
Спирея серая	Контроль	29,5 ± 2,3	118,6	18,0 ± 1,6	150,0
	Опыт	35,0 ± 2,4		27,0 ± 1,9	
Туя западная низкая	Контроль	21,0 ± 1,7	119,0	15,0 ± 1,3	113,3
	Опыт	25,0 ± 1,8		17,0 ± 1,4	



Рис. Влияние жидкого биогумуса (щелочная вытяжка) на рост и развитие саженцев, тиса ягодного (а), барбариса Тунберга краснолистного (b), туи западной низкой (с)

Fig. The impact of liquid biohumus (alkaline extract) on growth and development of seedlings of *Taxus baccata* (a), *Berberis thunbergii* 'Atropurpurea' (b), *Thuja occidentalis* 'Nana' (c)

Заклучение. Установлено положительное влияние жидкого биогумуса (щелочная вытяжка) на рост и развитие саженцев декоративных древесных растений. Так, высота саженцев туи западной низкой превосходила контроль на 19,0 %, длина корневых систем – на 13,3 %. У барбариса Тунберга эти показатели составили 47,1 и 40,0 %; у спиреи серой – 18,6 и 50,0; у тиса ягодного – 9,0 и 23,1; у ели голубой – 22,2 и 20,0 % соответственно. Можно утверждать, что жидкая подкормка биогумусом в большинстве случаев способствует существенному увеличению роста как надземной части саженцев декоративно-древесных растений, так и их корневых систем. Применение жидкого биогумуса эффективно при выращивании саженцев декоративных древесных растений. Можно предположить, что препарат эффективнее действует на растения с более интенсивным ростом. Для медленно растущих это воздействие, очевидно, будет пролонгированным.

Таким образом, поскольку биогумус является эффективным органическим удобрением, увеличивающим прирост декоративных культур, его следует с уверенностью рекомендовать к применению в практике декоративного питомниководства.

Список использованных источников

1. Максимова, С. Л. Видовой состав дождевых червей и их биотопическое распределение на территории Беларуси / С. Л. Максимова, Ю. Ф. Мухин // Вест. Нац. акад. Навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2016. – № 1. – С. 56–60.
2. Мельник, И. А. Вермикультура – новое мощное средство оздоровления окружающей среды и получения чистой сельхозпродукции / И. А. Мельник // Зерновые культуры. – 1963. – № 4. – С. 9–11.

3. Парахин, Н. В. Биологическое земледелие в России : учеб. пособие / Н. В. Парахин, В. Т. Лобков. – Орел : Орл. гос. аграр. ун-т, 2000. – 175 с.
4. Максимова, С. Л. Применение жидких гуминовых удобрений на основе биогумуса в интенсивном земледелии : метод. рекомендации / С. Л. Максимова, В. Н. Босак, Е. Г. Лузин. – Минск : НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам, 2014. – 18 с.
5. Использование биогумуса для выращивания саженцев древесных интродуцентов / И. М. Гаранович [и др.] // Вес. Беларусі. Сер. біял. навук. – 2016. – № 3. – С. 5–8.
6. Гаранович, И. М. Применение биогумуса при выращивании саженцев декоративных древесных растений / И. М. Гаранович, А. В. Архаров, Е. Д. Блинковский // Изучение, сохранение и рациональное использование растительного мира Евразии : Междунар. науч. конф., посвящ. 85-летию Ин-та ботаники и фитоинтродукции Ком-та науки М-ва образования и науки Респ. Казахстан (Алматы, 17–19 авг. 2017 г.) : сб. / гл. ред. Г. Т. Ситпаева. – Алматы, 2017. – С. 524–529.
7. Игонин, А. М. Как повысить плодородие почвы в десятки раз с помощью дождевых червей / А. М. Игонин. – М. : Маркетинг, 1999. – 32 с.
8. Мерзлая, Т. Е. Методика и результаты исследований эффективности компостов и вермикомпостов / Г. Е. Мерзлая // Дождевые черви и плодородие почв : материалы 2-й Междунар. конф. (Владимир, 17–19 марта 2004 г.) / науч. ред. И. Н. Титов. – Владимир, 2004. – С. 39–43.

References

1. Maksimova S. L., Mukhin Yu. F. Species composition of earthworms and their biotopical distribution on the territory of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 1, pp. 56–60 (in Russian).
2. Mel'nik I. A. Vermiculture as a new powerful means of enhancing the environment and getting clean agricultural products. *Zernovye kul'tury* [Grain crops], 1963, no. 4, pp. 9–11 (in Russian).
3. Parakhin N. V., Lobkov V. T. *Biological agriculture in Russia*. Orel, Oryol State Agrarian University, 2000. 175 p. (in Russian).
4. Maksimova S. L., Bosak V. N., Luzin E. G. *Using liquid humin biohumus-based fertilizers in intensive farming*. Minsk, Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, 2014. 18 p. (in Russian).
5. Garanovich I. M., Makedonskaya N. V., Arkharov A. V., Blinkovskii E. D. The use of biohumus for growing seedlings of introduced woody plants. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2016, no. 3, pp. 5–8 (in Russian).
6. Garanovich I. M., Arkharov A. V., Blinkovskii E. D. Using biohumus in growing ornamental woody plants seedlings. *Izuchenie, sokhranenie i ratsional'noe ispol'zovanie rastitel'nogo mira Evrazii: Mezhdunarodnaya nauchnaya konferentsiya, posvyashchennaya 85-letiyu Instituta botaniki i fitointroduktsii Komiteta nauki Ministerstva obrazovaniya i nauki Respubliki Kazakhstan (Almaty, 17–19 avgusta 2017 goda): sbornik* [Research, conservation and rational use of the flora of Eurasia: International scientific conference dedicated to the 85th anniversary of the Institute of Botany and Phytointroduction of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Almaty, August 17–19, 2017): collection]. Almaty, 2017, pp. 524–529 (in Russian).
7. Igonin A. M. *How to increase soil fertility by ten folds with the help of earthworms*. Moscow, Marketing Publ., 1999. 32 p. (in Russian).
8. Merzlaya T. E. Methods and results of studying the efficiency of composts and vermicomposts. *Dozhdevye chervi: materialy vtoroi Mezhdunarodnoi konferentsii "Dozhdevye chervi i plodorodie pochv" (Vladimir, 17–19 marta 2004 g.)* [Earthworms and soil fertility : Proceedings of the Second International conference "Earthworms and Soil Fertility" (Vladimir, March 17–19, 2004)]. Vladimir, 2004, pp. 39–43 (in Russian).

Информация об авторах

Гаранович Игорь Михайлович – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bel.dendr@gmail.com

Блинковский Евгений Дмитриевич – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Igor M. Garanovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bel.dendr@gmail.com

Evgeniy D. Blinkovskiy – Junior Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus).