

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай

АКАДЭМІі НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК. 2021. Т. 66, № 4

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ

АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК. 2021. Т. 66, № 4

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

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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

Главный редактор

Владимир Иванович Торчик – Отделение биологических наук Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

Редакционная коллегия

М. Е. Никифоров (*заместитель главного редактора*) – Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь

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
- 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-Пяэцка** – 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, № 4.

Выходит на русском, белорусском и английском языках

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

Подписано в печать 12.10.2021. Выход в свет 26.10.2021. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 74 экз. Заказ 219.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,51 руб., ведомственная подписка – 29,60 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. 4

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

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Editor-in-Chief

Vladimir I. Torchyk – Department of Biological Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

Editorial Board

Mikhail E. Nikiforov (*Associate Editor-in-Chief*) – Scientific and Practical Center of the National Academy
of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Republic of Belarus

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*

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
Vasilii 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. 4.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

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

Sent for press 12.10.2021. Output 26.10.2021. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 74 copies. Order 219.
Number price: individual subscription – 12.51 byn., departmental subscription – 29.60 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

Бутенко А. В., Квачева З. Б., Василевич И. Б., Часнойть А. Ч., Вологовский И. Д. Тканевой эквивалент кожи – клеточный продукт на основе кератиноцитов и фибробластов кожи человека: свойства компонентов эквивалента и перспективы использования продукта на практике	391
Копылова Н. А., Ламан Н. А., Недведь Е. Л., Калацкая Ж. Н., Филатова И. И., Люшкевич В. А., Гончарик С. В. Оценка влияния плазменной и радиоволновой обработки семян на содержание изофлавонов в листьях сои (<i>Glycine max</i> L.).....	402
Сахвон В. В., Никифоров М. Е. Особенности формирования структуры населения птиц города Минска во временном аспекте	412
Кузмицкая П. В., Королева Е. С., Урбанович О. Ю. Ген яблони <i>MD13G1109800</i> относится к транскрипционным факторам семейства Trihelix и экспрессируется в ответ на воздействие абиотических стрессовых факторов	426
Масловский О. М. Таксономический анализ бриофлористических комплексов Восточной Европы.....	433
Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Шилова Ю. А., Кишкурно Е. П. Генетическое разнообразие энтеровирусов у пациентов с респираторными формами инфекции.....	444
Рябцева Т. В., Макаревич Д. А., Таганович А. Д. Моделирование и анализ взаимодействия олигопептидов с фактором некроза опухолей-альфа	453
Лапука И. И., Вежновец В. В. Влияние подогрева воды на количественные показатели зообентоса водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС.....	462
Машков Е. И., Гайдученко Е. С. Криптические виды рода <i>Microtus</i> на территории Беларуси: таксономическое положение и распространение	475
Шлапакова Т. Г., Титок В. В. Морфологические особенности семян рода <i>Turbinicarpus</i>	482
Солтани Г. А. Климатические изменения и деятельность ботанических садов.....	491

АГЛЯДЫ

Терехова М. М., Абашкин В. М., Жогла В. А., Галец-Буй И. В., Лозникова С. Ж., Брышевская М., Ионов М., Вацуликова И., Мажораль Ж.-П., Щербин Д. Г. Взаимодействие полиамидаминных дендримеров и амфифильных дендронов с липидными мембранами.....	497
--	-----

CONTENTS

Butenka A. V., Kvacheva Z. B., Vasilevich I. B., Chasnoit A. Ch., Volotovskii I. D. Tissue dermal equivalent – a cellular product based on human dermal keratinocytes and fibroblasts: the properties of equivalent components and perspectives of practical application.....	391
Kopylova N. A., Laman N. A., Nedved H. L., Kalatskaya J. N., Filatova I. I., Lyushkevich V. A., Goncharik S. V. Estimation of the effect of plasma and radio wave treatment of seeds on the content of isoflavones in soybean leaves (<i>Glycine max</i> L.)	402
Sakhvon V. V., Nikiforov M. E. Features of formation bird population structure in Minsk in the time aspect.....	412
Kuzmitskaya P. V., Karaleva K. S., Urbanovich O. Yu. Apple gene <i>MD13G1109800</i> is a member of Trihelix family transcription factors and expressed in response to abiotic stress.....	426
Maslovsky O. M. Taxonomic analysis of bryofloristic complexes of Eastern Europe	433
Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Shilova Yu. A., Kishkurno E. P. Genetic diversity of enteroviruses in patients with respiratory infection.....	444
Ryabtseva T. V., Makarevich D. A., Taganovich A. D. Modeling and interaction analysis of the tumor necrosis factor-alpha with oligopeptides.....	453
Lapuka I. I., Vezhnavev V. V. The effect of heating water on the quantitative parameters of the zoobenthos of the Lukomlskaya GRES cooling reservoir.....	462
Mashkou Ya. I., Gaiduchenko H. S. Cryptic species of the genus <i>Microtus</i> on the territory of Belarus: taxonomic position and distribution.....	475
Shlapakova T. G., Titok V. V. Morphological characteristics of seeds of the genus <i>Turbinicarpus</i>	482
Soltani G. A. Climate change and the activities of botanical gardens	491

REVIEWS

Terehova M. M., Abashkin V. M., Zhogla V. A., Halets-Bui I. V., Loznikova S. Zh., Bryszewska M., Ionov M., Waczulikova I., Majoral J.-P., Shcharbin Dz. G. Interaction of polyamidoamine dendrimers and amphiphilic dendrons with lipid membranes.....	497
---	-----

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 616.3; 575.5; 57.089-03

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-391-401>

Поступила в редакцию 02.06.2021

Received 02.06.2021

А. В. Бутенко¹, З. Б. Квачева¹, И. Б. Василевич¹, А. Ч. Часнойть², И. Д. Волотовский¹

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

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

ТКАНЕВОЙ ЭКВИВАЛЕНТ КОЖИ – КЛЕТОЧНЫЙ ПРОДУКТ НА ОСНОВЕ КЕРАТИНОЦИТОВ И ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА: СВОЙСТВА КОМПОНЕНТОВ ЭКВИВАЛЕНТА И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОДУКТА НА ПРАКТИКЕ

Аннотация. В данной статье рассмотрены природа, способы выделения и культивирования *in vitro* кератиноцитов и фибробластов – основных клеточных компонентов кожи, использованных для изготовления нового биомедицинского клеточного продукта – тканевого эквивалента кожи. Основное внимание уделено оптимизации накопления биомассы клеток кожи. Приведены основные характеристики клеточных культур: их пролиферативная активность, жизнеспособность и фенотип. Изучена генотоксичность фибробластов – ключевого компонента биомедицинского клеточного продукта, а также биосовместимость клеток с органическими матрицами для определения оптимального носителя клеточных элементов в составе тканевого эквивалента кожи. Описаны состав и процесс изготовления тканевого эквивалента кожи, а также перспективы его практического применения.

Ключевые слова: кожа, фибробласты, кератиноциты, тканевой эквивалент кожи, биополимеры, фенотип, генотоксичность

Для цитирования: Тканевой эквивалент кожи – клеточный продукт на основе кератиноцитов и фибробластов: свойства компонентов эквивалента и перспективы использования продукта на практике / А. В. Бутенко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 391–401. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-391-401>

Anna V. Butenka¹, Zinaida B. Kvacheva¹, Irina B. Vasilevich¹, Alexej Ch. Chasnoit², Igor D. Volotovskii¹

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

²Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

TISSUE DERMAL EQUIVALENT – A CELLULAR PRODUCT BASED ON HUMAN DERMAL KERATINOCYTES AND FIBROBLASTS: THE PROPERTIES OF EQUIVALENT COMPONENTS AND PERSPECTIVES OF PRACTICAL APPLICATION

Abstract. The nature and ways of isolation and cultivation *in vitro* of keratinocytes and fibroblasts, the main cellular components of skin to prepare a new biomedical product, tissue dermal equivalent were considered. The main attention was paid to optimization of upbuilding dermal cell biomass including selection of medium compositions and conditions of cultivation. The information was given on main parameters of cell cultures as proliferation activity, viability and phenotype of the cells. Genotoxicity of fibroblasts and biocompatibility of the cells with organic matrixes to find the optimal carrier for cellular elements of tissue dermal equivalent were studied. The composition, the process of preparation of tissue dermal equivalent and perspectives of its practical application were discussed.

Keywords: skin, fibroblasts, keratinocytes, tissue dermal equivalent, biopolymers, phenotype, genotoxicity

For citation: Butenka A. V., Kvacheva Z. B., Vasilevich I. B., Chasnoit A. Ch., Volotovskii I. D. Tissue dermal equivalent – a cellular product based on human dermal keratinocytes and fibroblasts: the properties of equivalent components and perspectives of practical application. *Vesti Natsyunal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 391–401 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-391-401>

Введение. Проблема восстановления дефектов при заболеваниях и повреждениях кожи различной этиологии (трофические язвы, ожоги) постоянно привлекает внимание исследователей, о чем свидетельствует значительное расширение арсенала медикаментозных средств и появление новых, технологически более совершенных методов лечения [1, 2]. Согласно мировым данным, около 6 млн жителей планеты ежегодно обращаются за медицинской помощью по поводу

ожоговых травм. В США число ожоговых пациентов приближается к 1 млн человек в год. В Республике Беларусь число пациентов с термической травмой составляет около 30 тыс. человек в год. По разным данным, инвалидами становятся порядка 6–9 % пациентов от общего числа получивших медицинскую помощь. Следовательно, ввиду высокой распространенности ожогового травматизма проблема лечения ожогов в Республике Беларусь остается актуальной. При обширных повреждениях кожи (ожоги III–IV степени) ее самостоятельное восстановление невозможно без дополнительного медицинского вмешательства, при этом восстановление кожного покрова длится месяцами и сопровождается образованием грубых патологических рубцов с развитием деформаций и контрактур, приводящих к инвалидизации.

Успехи в области клеточной биологии и в разработке клеточных технологий лечения, а также их широкое применение в клинической практике способствовали развитию самостоятельного медицинского направления – регенеративной медицины [3–6]. Среди наиболее перспективных и успешных областей использования клеточных технологий следует особо выделить комбустологию, в рамках которой получило распространение лечение повреждений кожи, включая термические, с использованием дермальных кератиноцитов и фибробластов. Последние благодаря своей прогениторной активности обладают высокой терапевтической эффективностью. Впервые о клеточных технологиях с использованием клеток кожи упоминается в работах Грина с соавт. [7], опубликованных еще в конце 1970-х годов.

В настоящее время в рамках рассматриваемой проблемы ключевое место занимают разработка и производство различных тканевых эквивалентов кожи (ТЭК), которые включают культивированные клетки кожи, например кератиноциты и фибробласты, биологически активные соединения, а также носители (матрицы) – имитаторы внутриклеточного матрикса кожи, состоящие из коллагена, гликозаминогликанов и др. [1, 2, 8–16], используемые в виде гелей, пленок, губок, скаффолдов. Культивированные аутологичные и аллогенные кератиноциты и фибробласты комплексируют с матрицей, приобретая ряд преимуществ по сравнению с изолированными клетками. В составе комплексов клетки достаточно долго находятся в активном функциональном состоянии, близком к их состоянию в ткани. Носители с добавками ростовых факторов и других биологически активных молекул поддерживают условия, при которых сохраняется жизнеспособность и функциональная активность клеток, входящих в состав тканевого эквивалента [1, 2, 10, 13]. Преимущество заменителя (эквивалента) кожи очевидно: из относительно небольшого кусочка кожи можно выделить и нарастить в культуре большое количество клеток необходимого типа, способных покрыть раневую поверхность, в тысячи раз превышающую площадь донорского кусочка кожи [4].

Кератиноциты, основной клеточный компонент эпидермиса [8, 10, 17], содержатся во всех слоях эпидермиса. В базальном слое они соседствуют с мезенхимальными стволовыми клетками, которые и дифференцируются в кератиноциты, благодаря чему обеспечивается регенерация эпидермиса. В составе эпидермиса кератиноциты соединяются между собой с помощью десмосом, образуя друг с другом межклеточные контакты, за счет которых осуществляются передача сигналов и транспорт веществ между клетками. Основные функции кератиноцитов – структурная и барьерная. Так, они формируют барьер, предотвращающий проникновение в организм из внешней среды микроорганизмов, вирусов, участвуют в терморегуляции и защищают организм от обезвоживания. Именно с кератиноцитами соседствуют меланоциты – клетки, содержащие пигмент меланин, который, являясь световым фильтром кожи, защищает организм от ультрафиолетового излучения. При контакте с вирулентными факторами кератиноциты синтезируют хемокины и цитокины и вместе с лейкоцитами обеспечивают иммунологический ответ. Кроме того, кератиноциты синтезируют структурные белки кератин, инволюкрин, кератолин и др., являющиеся основой механической защиты кожи. При повреждении кожи происходит деление кератиноцитов и их миграция в травмированную область, в результате чего запускаются процессы эпителизации раневого дефекта.

Дермальные фибробласты представляют собой основной клеточный компонент соединительнотканной основы кожи, обеспечивающий ее гомеостаз и морфофункциональную организацию [2, 6, 8, 17–19]. Фибробласты дермы (ФД) имеют удлиненную веретенообразную форму с отрос-

ками и плоское овальное ядро. Они активно участвуют в ангиогенезе: продуцируют многие паракринные факторы (VEGFs, FGFs, TGF- β 1, HGF/SF и ангиопоэтин-1), которые индуцируют дифференцировку и миграцию эндотелиальных клеток, способствуют образованию и стабилизации кровеносных сосудов. Они вовлечены также в процессы нейроэндокринной регуляции кожи: синтезируют биологически активные пептиды – гормоны, биогенные амины, нейропептиды и нейротрансмиттеры, идентичные таковым в центральной нервной и эндокринной системах, пролактин, гормон роста, 17- β -эстрадиол; экспрессируют рецепторы андро- и эстрогенов, посредством которых осуществляется влияние этих гормонов на кожу человека.

Скорость роста и характеристики фибробластов в культуре зависят от их количества, возраста донора, источника их выделения (ретикулярная или сосочковая дерма) и анатомической области кожи, из которой получают клетки. На фибробласты *in vitro* оказывают влияние тромбоцитарный фактор роста, эпидермальный фактор роста, различные гормоны, витамины, антиоксиданты. В коже в результате дифференцировки фибробласты превращаются в зрелые клетки – фиброциты [18].

Кератиноциты и фибробласты находятся в тесном взаимодействии друг с другом, обеспечивая оптимальный уровень функционирования кожи как барьерного органа [6, 10]. Учитывая изложенное выше, именно кератиноциты и фибробласты стали использовать в качестве клеточного материала при разработке клеточных технологий лечения заболеваний и травм кожи. Хороший клинический эффект, полученный при применении клеточных технологий в комбустиологии за рубежом [3, 5, 8], и отсутствие данного метода лечения в нашей стране определили необходимость разработки нового биомедицинского клеточного продукта (БМКП) – ТЭК, а на его основе – нового метода лечения ожогов и других повреждений кожи.

Целью исследования являлась разработка биомедицинского клеточного продукта – тканевого эквивалента кожи, включающего культивированные аутологичные или аллогенные кератиноциты и фибробласты дермы, иммобилизованные на биodeградируемом носителе, и последующее использование данного клеточного продукта при лечении ожогов и их последствий.

В ходе работы решались следующие задачи:

1. Провести забор биоматериала (кожи) у пациентов, выделить из нее дермальные кератиноциты и фибробласты и накопить их необходимую биомассу в условиях культуры.
2. Охарактеризовать качество полученных кератиноцитов и фибробластов, оценить генотоксичность фибробластов, исследовать клетки на биосовместимость с полимерными носителями.
3. Разработать протокол приготовления БМКП–ТЭК для применения в регенеративной медицине. Подготовить лабораторный технический регламент на производство ТЭК на основе культивированных клеток кожи, иммобилизованных на биodeградируемом носителе.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили клетки кожи (кератиноциты и фибробласты) пациентов с ожоговой травмой. Забор биоптатов кожи у пациентов осуществляли в отделении пластической и эстетической микрохирургии БелМАПО при их информированном согласии. Возраст доноров составлял от 29 до 60 лет. Все они проходили обследования, включая общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови, определение коагулограммы, группы крови, наличие резус-фактора, а также анализы на вирусы гепатита В и С, ВИЧ/СПИД и сифилис. У ожоговых пациентов производилась эксплантация участка кожи размером 2×2 мм на удалении от ожоговых ран, после чего раны ушивали узловыми швами с соблюдением правил асептики и антисептики.

Биоптаты кожи доставляли в лабораторию Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси в стерильных флаконах с питательной средой или физиологическим раствором, помещенных в специальный контейнер при температуре не выше 4 °С. Доставка занимала не более 4 ч от времени забора.

Для выбора наиболее оптимального носителя для кератиноцитов и фибробластов при создании БМКП–ТЭК исследовали следующие полимерные органические соединения:

- 1) кальциевую и натриевую формы окисленной целлюлозы в виде ткани и пленки, фосфат декстран в виде гидрогеля, стерилизованные гамма-излучением (Институт физико-химических проблем, БГУ, Минск);

2) полилактид (Институт порошковой металлургии, Минск), представляющий собой пленку толщиной 0,1–0,2 мм;

3) «Хитомед» (ОАО «Завод горного воска», г. п. Свислочь, Беларусь) – стерильное заживляющее раневое покрытие, изготовленное в форме прямоугольной пластины диаметром от 60 до 200 мм из нетканых материалов на основе полипропилена с нанесенным слоем нановолокон хитозана, плотность которых составляла 1,0–2,0 г/м²;

4) Коллост-гель (ЗАО «БиоФармхолдинг», Россия) – 7 %-ный стерильный биопластический коллагеновый материал нового поколения (получаемый из кожи телят коллаген I типа, который по биохимическому составу и структуре близок к человеческому коллагену) с полностью сохраненной нативной структурой.

Определение пролиферативной активности клеток. Пролиферативную активность клеток оценивали по их накоплению в трех культуральных флаконах в ходе трех пассажей культивирования одного и того же клеточного образца. Подсчитывали количество снятых с пластика клеток на 1 мл среды и делили их на количество посеянных клеток, принимая полученную величину за индекс пролиферации.

Определение жизнеспособности клеток. Для определения жизнеспособности клеток использовали тест на окрашиваемость их красителем (0,5 %-ный раствор трипанового синего), который способен проникать через цитоплазматическую мембрану только погибших клеток и, следовательно, их окрашивать. Количество (процентное содержание) нежизнеспособных (окрашенных) и жизнеспособных (неокрашенных) клеток подсчитывали под микроскопом с использованием камеры Горяева.

Содержание апоптотических и некротических клеток в культуре оценивали методом проточной цитофлуориметрии (FACSCanto II, Becton Dickson, США) с использованием зондов флуоресцеин диацетата (FDA, Sigma) и пропидиум иодида (PI, Sigma). Для этого клетки инкубировали в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре с 0,5 мкг/мл флуоресцеин диацетата (Sigma, США) и 5 мкг/мл пропидиум иодида (Sigma, США), а затем анализировали под флуоресцентным микроскопом Olympus IX71 (Япония), используя для возбуждения «зеленой» флуоресценции (505–560 нм) излучение в области 420–495 нм, а для возбуждения «красной» флуоресценции (620–720 нм) излучение в области 520–580 нм. Изображения регистрировали цифровой камерой DP72 (Япония) и изучали с помощью программного обеспечения Cell F (Olympus, Япония). Жизнеспособные клетки интенсивно флуоресцировали в зеленой области спектра, некротические – в красной. Подсчитывали количество жизнеспособных и некротических клеток в 5 полях зрения микроскопа, среднее значение жизнеспособности выражали в процентах по отношению к количеству всех проанализированных в пробе клеток.

Для идентификации кератиноцитов в культуре использовали антитела, меченные флуорохромами к цитокератину 19 (K19) (Stem Cell Technologies, Канада), рабочее разведение 1:100, нестину (Sigma, США), рабочее разведение 1:50. Для идентификации фибробластов использовали моноклональные антитела, меченные флуорохромами к CD29, CD34, CD44, CD45, CD73, CD90, CD105 (Sigma, США), рабочее разведение 1:100; цитокератину 19, рабочее разведение 1:100; нестину (Sigma, США), рабочее разведение 1:50; виментину (Stem Cell Technologies, Канада), рабочее разведение 1:100; фибронектину (Stem Cell Technologies, Канада), рабочее разведение 1:100. Измерения и анализ проводили методом проточной цитофлуориметрии и использованием флуоресцентного микроскопа согласно инструкции фирмы-производителя.

Оценка генотоксичности препаратов. Для определения генотоксических свойств клеточных элементов кожи ФД человека изучали методом ДНК-комет [20], с помощью которого определяли уровень повреждения ДНК лимфоцитов периферической крови (ЛПК) здоровых доноров после их сокультивирования с фибробластами кожи. Сокультивирование ФД и ЛПК проводили в питательной среде ДМЕМ с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки в течение 24 ч и соотношении ФД/ЛПК, равном 1:1 и 1:5. Сокультивировали четыре культуры ФК с каждой из четырех культур ЛПК в двух соотношениях ФД/ЛПК и в двух повторах с последующим анализом 96 образцов клеток, а также в трех повторах четырех культур ЛПК без ФД с последующим

анализом 12 образцов контрольных клеток и 12 образцов клеток, обработанных мутагеном (100 мкМ H_2O_2).

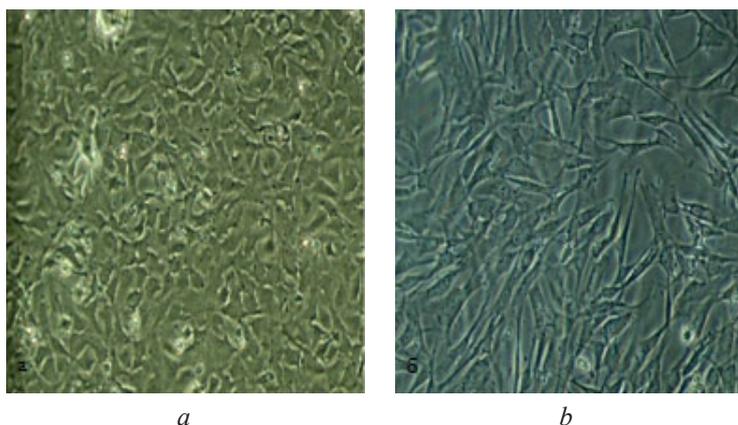
Контроль стерильности. Контроль стерильности осуществляли согласно Государственной фармакопее Республики Беларусь (ст. 2.6.27 «Микробиологический контроль клеточных продуктов»).

Статистическая обработка результатов. Использовали пакет программ STATISTICA 10.0 (Version10-Index, StatSoft Inc., США). Статистическую значимость различий между показателями групп определяли с помощью рангового анализа вариаций Краскела–Уоллиса (H -критерий). Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ (вероятность выше 95 %) и высокодостоверными при $p < 0,001$ (вероятность выше 99,9 %). За нулевую гипотезу принято утверждение, что наблюдаемые различия между одноименными признаками в исследуемых группах находятся в пределах случайных отклонений, т. е. различия недостоверны.

Результаты и их обсуждение. *Приготовление культуры кератиноцитов кожи человека.* Культуру кератиноцитов готовили по разработанной нами методике (патент РБ № 18533). В начале процесса эпидермис отделяли от дермы с помощью пинцета, а ткань эпидермиса обрабатывали 0,1 %-ным раствором коллагеназы в течение 10 мин. Затем суспензию клеток фильтровали и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Полученный осадок ресуспендировали в питательной среде ДМЕМ/F12, содержащей 10 нг/мл эпидермального фактора роста, 5 мкг/мл инсулина, 5 мкг/мл трансферрина, 6,7 мкг/мл селенида, 50 мкг/мл форсколина, 50 мкг/мл гентамицина сульфата и 5 % эмбриональной телячьей сыворотки. После этого взвесь клеток высевали на чашки Петри, дно которых было предварительно покрыто коллагеном I типа. Для культивирования кератиноцитов использовали пластиковые культуральные флаконы, в каждый из которых высевали по 500 тыс. клеток/мл. Флаконы помещали в инкубатор с фиксированной температурой (37 °С) и влажной атмосферой, содержащей 5 % CO_2 . Морфологию клеток оценивали под инвертированным микроскопом СКХ 41 (OLYMPUS, Япония) в течение всего срока культивирования. Предлагаемый способ культивирования с использованием ростовой среды и добавок позволил селективно выделить из образца кожи большее количество пролиферативно активных кератиноцитов и при их дальнейшем культивировании за тот же промежуток времени накопить значительно большее количество биомассы клеток.

Кератиноциты в культуре были представлены гетерогенной популяцией. В культуре можно было выделить три группы клеток: голоклоны, параклоны и мероклоны. Голоклоны обладают максимальной способностью к пролиферации (могут претерпевать в культуре до 100 делений); параклоны представляют собой клетки с низким пролиферативным потенциалом (проходят не более 15 делений); группа мероклонов содержит клетки с разным пролиферативным потенциалом, занимая промежуточное место. Предполагается, что голоклоны образованы стволовыми клетками с максимальным пролиферативным потенциалом, параклоны – транзиторными клетками, а мероклоны – прогениторными клетками, обладающими меньшим пролиферативным потенциалом, чем стволовые клетки [21]. Следует отметить, что в культуре одновременно культивируются и фибробласты. Однако по мере нарастания биомассы фибробласты оттесняются на края культурального флакона, а в его центре оказывается наиболее однородная культура кератиноцитов.

Приготовление культуры фибробластов. Культуру фибробластов кожи человека готовили по разработанной нами методике (патент РБ № 18841). Кожный лоскут помещали в 0,2 %-ный раствор диспазы и инкубировали при +40 °С в течение 12 ч, затем пинцетом удаляли эпидермис, дерму измельчали на фрагменты и помещали в стерильную стеклянную чашку Петри. В чашку добавляли ростовую среду, состоящую из ДМЕМ (Lonza, Канада), 20 мМ аскорбиновой кислоты (Sigma), антибиотика-антимикотика (StemCellTechnologies, Канада), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Lonza, Бельгия). Клетки культивировали при 37 °С в термостате в атмосфере, содержащей 5 % CO_2 , в течение от 14 до 21 дня до образования вокруг экспланта монослоя фибробластов. Монослой клеток обрабатывали 0,25 %-ным раствором трипсина в 0,02 %-ном растворе ЭДТА. Для накопления большей биомассы клеток в субпассажах фрагменты эксплантов переносили в другие чашки Петри и культивировали в ростовой среде до получения через 5–7 сут монослоя клеток. Полученные клетки в количестве 10–20 тыс. клеток/см² высевали в новые чашки.



Микрофотографии кератиноцитов кожи (а) и фибробластов дермы (б) человека.
 Время культивирования клеток (2-й пассаж) – 7 сут. $\times 20$
 Microphotographs of dermal keratinocytes (a) and fibroblasts (b).
 Time of cell cultivation (second passage) – 7 days. $\times 20$

Таким образом, в ходе нескольких пассажей можно было накопить необходимую клеточную биомассу. После образования клеточного монослоя экспланты переносили в новые чашки с ростовой средой и инкубировали до полной миграции клеток из экспланта. Каждый монослой снимали и субпассировали в ростовой среде из расчета 20 тыс. клеток/см². Используемая в данной работе методика выделения и культивирования фибробластов из папиллярного слоя дермы позволила получить пул митотически активных фибробластов и сократить сроки формирования монослоя.

На рисунке представлены микрофотографии культур кератиноцитов и фибробластов кожи человека.

Жизнеспособность клеточных культур. При получении кератиноцитов кожи человека по описанной выше методике количество клеток в 1,0 см³ составило 3,5 млн, а жизнеспособность – $92,3 \pm 3,0$ %. При этом среди нежизнеспособных клеток на долю апоптотических и некротических клеток приходилось $2,8 \pm 0,3$ и $4,3 \pm 1,5$ % соответственно.

Оценка жизнеспособности фибробластов показала, что культуры ФД, судя по окрашиваемости клеток трипановым синим, характеризовались высокой жизнеспособностью: количество жизнеспособных клеток в пассажах составило $(95-96,2) \pm 1,5$ %, а нежизнеспособных – не более 4 %, в том числе апоптотических – 0,8–1,8 %, некротических – 2,9–3,9 %.

Фенотип фибробластов и кератиноцитов кожи в культуре. В настоящее время установлен ряд маркерных белков, находящихся на поверхности и внутри клеток. Они экспрессируются на определенной стадии дифференцировки кератиноцитов и фибробластов. Анализ данных проточной цитофлуориметрии показал, что фибробласты в культуре содержат маркерные белки, характерные для мезенхимальных стволовых и прогениторных клеток (CD29, CD73, CD90, CD105), и не содержат в своей структуре маркерные белки, присущие гемопоэтическим стволовым клеткам (CD34 и CD45). Кроме того, выявлен высокий показатель содержания клеток, экспрессирующих виментин (97,8 %) – белок промежуточных филаментов соединительной ткани, и фибронектин (от 28,2 % и более) – белок, выполняющий интегрирующие функции в межклеточном пространстве и обладающий высокой адгезирующей способностью. Отмечено небольшое процентное содержание клеток (5–7 %), экспрессирующих белки промежуточных филаментов эпителиальных стволовых и прогениторных клеток – цитokerатин 19, нестин.

Анализ культуры кератиноцитов выявил высокое содержание клеток, экспрессирующих цитокератин 19 и нестин, и небольшое содержание клеток (3–5 %), имеющих маркеры мезенхимальных прогениторных клеток.

Исследование генотоксичности фибробластов кожи. В отсутствие фибробластов кератиноциты хотя и оказывают стимулирующее действие на собственные клетки реципиента, но практически не приживаются при трансплантации на гранулирующие ожоговые раны. В то же время

трансплантация культивированных фибробластов при лечении ожогов значительно ускоряет эпителизацию ран и обеспечивает заживление пограничных ожогов уже через 6–8 сут после трансплантации [1]. Кроме того, аллогенные и аутологичные ФД стимулируют пролиферацию и дифференцировку периваскулоцитов реципиента, которые, трансформируясь в фибробласты, способствуют пролиферации и миграции кератиноцитов. По литературным данным [1, 4, 5], применение аллогенных фибробластов в различных ожоговых центрах показало высокую эффективность метода и хорошую приживаемость клеточного трансплантата (в среднем 97 %).

Известно, что нормальные фибробласты в культуре сохраняют диплоидный кариотип, способны расти только при прикреплении к поверхности культурального флакона, обладают феноменом контактного торможения и имеют ограниченную продолжительность жизни [2]. Кроме того, они не онкогенны и характеризуются низкой экспрессией антигенов гистосовместимости. Эти показатели были внесены в аналитический паспорт, и им должны соответствовать все культуры, используемые для получения БМКП–ТЭК. Тем не менее, следовало проверить, обладают ли фибробласты генотоксичностью.

При изучении биобезопасности (генотоксичности) фибробластов методом ДНК-комет [22] были получены следующие результаты:

1. Уровень повреждения ДНК лимфоцитов периферической крови, культивированных в течение 24 ч в ростовой среде, составил 5,5–8,1 у. е., что соответствует фоновому уровню поврежденный ДНК лимфоцитов здоровых доноров.

2. ЛПК проявлял высокую чувствительность к мутагенному действию перекиси водорода (100 мкМ, 1 мин), под ее влиянием уровень повреждения ДНК клеток возрастал до 89–108 у. е.

3. После сокультивирования ЛПК в присутствии ФД (аллогенные культуры, 24 ч) уровень повреждения ДНК лимфоцитов составил 4,8–8,0 у. е. при соотношении ФД/ЛПК, равном 1:1, и 4,9–7,8 у. е. при соотношении клеток, равном 1:5.

На основании результатов проведенных экспериментов можно заключить, что фибробласты, изолированные из кожи и культивированные в искусственной среде, не обладают генотоксическим действием, т. е. безвредны и поэтому могут использоваться при разработке клеточных продуктов для их последующего применения в клинической практике.

Биологическая совместимость клеток кожи с биodeградируемыми носителями. Сначала исследовались клетки на биосовместимость с кальциевой и натриевой формами окисленной целлюлозы в виде ткани и с пленки и с фосфат декстраном в виде гидрогеля.

Клетки кожи засевали в пластиковые чашки Петри (Sarstedt, Германия) с носителями в виде ткани или пленки в количестве $5 \cdot 10^4$ клеток на 1 см^2 в 2 мл питательной среды. Инкубировали 2, 4 и 6 ч. При исследовании биосовместимости фибробластов и кератиноцитов с носителями в виде геля $5 \cdot 10^4$ клеток смешивали с 2 мл носителя, предварительно нагретого до 37°C , аккуратно перемешивали, заливали в чашки Петри и инкубировали в термостате при 37°C в течение 2, 4 и 6 ч.

Ткань и пленки кальциевой и натриевой формы окисленной целлюлозы обладали низкой биосовместимостью с клетками: после совместной инкубации в течение 2 ч этих препаратов с клетками было зарегистрировано появление значительного количества клеток (30–40 %), проницаемых для пропидиум иодида, что свидетельствовало о некротической гибели части клеток в культуре. Пленка из натриевой формы целлюлозы через 2 ч распадалась на фрагменты различных размеров, наблюдался сдвиг рН среды с 7,2 до 5,5, что отражалось на жизнеспособности клеток. После 6 ч инкубации количество некротических клеток составляло 75–100 %.

Пленки из полилактида толщиной 0,1–0,2 мм стерилизовались УФ-облучением в ламинарном боксе в течение 18–24 ч с последующим микробиологическим контролем стерильности. Жизнеспособность сохранялась на уровне 80 %. Однако ввиду того, что полилактидная пленка непрозрачна, наблюдать за ростом клеток под инвертированным микроскопом не представлялось возможным. Жизнеспособность клеток сохранялась на уровне 80 %.

При использовании геля из фосфата декстрана сдвига рН, как в случае с другими носителями, не наблюдалось, не было выраженной цитотоксичности носителя при инкубации с клетками. Клетки были не только жизнеспособны в субстрате, но и пролиферировали в данной среде.

В растворе с 1 %-ным Коллост-гелем токсического его влияния на клетки не выявлено. Жизнеспособность в течение всего времени инкубации сохранялась на уровне 92 %.

Из перечисленных выше носителей для приготовления тканевого эквивалента кожи был выбран коллагеновый гель как наиболее близкий по своим структурно-функциональным свойствам к элементам кожи.

При лечении повреждений кожных покровов применяется раневое покрытие «Хитомед». «Хитомед-ранозаживляющее стерильное» представляет собой препарат, предназначенный в качестве ранозаживляющего средства для восстановления кожных дефектов и трофических язв различного генеза при полном и частичном сохранении кожных дериватов, для ускоренной подготовки полнослойных кожных фрагментов к аутодермопластике, полноценного восстановления структуры донорских участков, быстрее заживления послеоперационных ран. Хитомед – это подложка из нетканых материалов на основе полипропилена в виде прямоугольных пластин диаметром от 60 до 200 мм с нанесенным лечебным слоем нановолокон хитозана. Поверхностная плотность нанесения нановолокон хитозана составляет 1,0–2,0 г/м². Лечебный слой защищен антиадгезионной бумагой, необходимой для беспрепятственного извлечения раневого покрытия из индивидуальной упаковки и отделения от лечебного слоя перед непосредственным наложением на рану. Оно обладает ранозаживляющим, антибактериальным, кровоостанавливающим свойствами, хорошей воздухопроницаемостью и, следовательно, обеспечивает адекватный газо- и влагообмен на уровне раневой поверхности длительное время, сохраняя высокую жизнеспособность клеток (см. таблицу).

Жизнеспособность клеток кожи, инкубированных с различными носителями, %

Viability of skin cells incubated with different matrixes, %

Носитель	Время инкубации					
	2 ч		4 ч		6 ч	
	ФД	Кератиноциты	ФД	Кератиноциты	ФД	Кератиноциты
Ткань из целлюлозы Са	70 ± 5,0	60 ± 2,0	56 ± 4,0	40 ± 3,0	35 ± 2,0	20 ± 1,2
Пленка из целлюлозы На	60 ± 3,8	50 ± 2,3	25 ± 1,0	17 ± 2,4	8 ± 3,2	3 ± 2,0
Пленка из полилактида	90 ± 2,5	87 ± 1,8	86 ± 3,0	85 ± 2,0	80 ± 2,4	75 ± 1,0
Гель из фосфата декстрана	97 ± 1,0	96 ± 2,2	95 ± 2,1	92 ± 1,6	93 ± 1,0	89 ± 3,0
Коллост-гель 1 %	98 ± 2,0	95 ± 1,5	97 ± 1,3	92 ± 1,2	95 ± 0,8	90,5 ± 1,0
Раневое покрытие «Хитомед»	95 ± 0,5	93 ± 0,7	92 ± 1,1	90 ± 3,0	90 ± 3,5	87 ± 2,0

Приготовление тканевого эквивалента кожи. Приготовление тканевого эквивалента кожи проводили в асептических условиях в ламинарном боксе. Для приготовления ТЭЖ использовали клетки 2–3-го пассажа. Иммунизацию кератиноцитов и фибробластов в соотношении 1:4 осуществляли в 1 %-ный коллагеновый Коллост-гель, который наносился послойно на раневое покрытие из хитозана. Терапевтическая доза клеток зависела от площади повреждения кожи и составляла порядка 50 тыс. клеток на 1 см² площади повреждения.

По результатам проведенной работы подготовлен лабораторный регламент и технические условия на производство ТЭЖ на основе культивированных клеток кожи, иммобилизованных на биодеградируемом носителе.

Полученный клеточный продукт удовлетворял следующим параметрам: стерильная опалесцирующая взвесь клеток без видимых на глаз включений, содержание клеток не менее 5·10³ клеток/мл, содержание жизнеспособных клеток не менее 85 %. Согласно фенотипированию, содержание маркеров фибробластов в клеточном продукте составляет: виментина – не менее 95 %, фибронектина – не менее 25 %. В случае кератиноцитов в продукте регистрируется содержание не менее 50 % маркера цитокератина 19 и не менее 25 % нестина.

БМКП не подлежит длительному хранению. Срок годности при температуре от +5 до +10 °С составляет не более 4 ч, при температуре от +20 до +33 °С – не более 12 ч от момента изготовления. Поэтому сразу же после изготовления препарат пересылался в клинику.

Транспортирование ТЭК в медицинское учреждение осуществлялось в стерильном контейнере, замораживание исключалось. На заключительных этапах проекта была принято решение готовить клеточный продукт с использованием клеточных ингредиентов и носителей прямо в операционной и сразу же наносить его на ожоговую поверхность пациента. В УП Центр экспертиз МЗ РБ было получено регистрационное удостоверение № БМКП-7.108662 «Эквивалент тканевой кожи человека» (ТУ ВУ100217351.011-2020, регистрационный номер БК-7.8-1910, разрешен к производству, реализации и медицинскому применению на территории Республики Беларусь в соответствии с инструкцией по применению). Совместно с кафедрой комбустиологии БелМАПО были проведены исследования эффективности применения БМКП на ожоговых пациентах, разработана инструкция по применению № 173-1219 «Метод лечения ожогов кожи с применением аутологичных фибробластов и кератиноцитов», которая была утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Заключение. Разработан биомедицинский клеточный продукт – тканевой эквивалент кожи, состоящий из культивированных фибробластов и кератиноцитов в коллагеновом геле, послойно наносимых на биодеградируемое раневое покрытие «Хитомед», с жизнеспособностью клеток не менее 85 %. Определены критерии качества культивируемых клеток. Подготовлен лабораторный технологический регламент на производство БМКП. БМКП внедрен в ожоговом отделении Минской больницы скорой помощи. Клеточная терапия с применением БМКП–ТЭК может применяться врачами комбустиологами-хирургами и специалистами, оказывающими хирургическую помощь пациентам с ожогами и их последствиями, и в других ожоговых отделениях учреждений здравоохранения республиканского и областного уровней.

Список использованных источников

1. Использование клеточных технологий для восстановления клеток кожи при ожоговой травме / Д. А. Алейник [и др.] // *Соврем. проблемы науки и образования*. – 2015. – № 4. – Ст. 331.
2. Волков, А. В. Краткий обзор коммерчески доступных клеточных продуктов для восстановления кожных покровов / А. В. Волков // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2006. – Т. 1, № 4. – С. 62–65.
3. Клеточные технологии для регенеративной медицины : сб. / под ред. Г. П. Пинаева, М. С. Богдановой, А. М. Кольцовой. – СПб. : Изд-во Политехн. ун-та, 2011. – 332 с.
4. Новые подходы к лечению тяжелых ожогов: трансплантация выращенных в культуре кератиноцитов / С. Ф. Малахов [и др.] // *Воен.-мед. журн.* – 1997. – Т. 318, № 9. – С. 16–19.
5. Туманов, В. П. С. 30-летний опыт разработки и применения клеточных технологий в клинической практике / В. П. Туманов, Д. А. Жакота, Н. С. Корчагина // *Пласт. хирургия и косметология*. – 2012. – № 3. – С. 433–449.
6. Терских, В. В. Эпидермальные кератиноциты человека и животных. Проблемы культивирования и трансплантации / В. В. Терских, А. В. Васильев. – М. : Наука, 1995. – 102 с.
7. Rheinwatd, J. G. Serial cultivation of stains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells / J. G. Rheinwatd, H. Green // *Cells*. – 1975. – Vol. 6, N 3. – P. 331–343. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(75\)80001-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(75)80001-8)
8. Волоатовский, И. Д. Морфофункциональные основы создания искусственной кожи (дермальных эквивалентов) / И. Д. Волоатовский, З. Б. Квачева // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2017. – № 3. – С. 96–103.
9. Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications / L. Cen [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2008. – Vol. 63, N 5. – P. 492–496. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31816c5bc3>
10. Gallo, R. L. Human skin is the largest epithelial surface for interaction with microbes / R. L. Gallo // *J. Invest. Dermatol.* – 2017. – Vol. 137, N 6. – P. 1213–1214. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.11.045>
11. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects / T. Dai [et al.] // *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* – 2011. – Vol. 9, N 7. – P. 857–879. <https://doi.org/10.1586/eri.11.59>
12. Croisier, F. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering / F. Croisier, C. Jérôme // *Eur. Polym. J.* – 2013. – Vol. 49, N 4. – P. 780–792. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009>
13. Dong, C. Application of collagen scaffold in tissue engineering: recent advances and new perspectives / C. Dong, Y. Lv // *Polymers*. – 2016. – Vol. 8, N 2. – Art. 42. <https://doi.org/10.3390/polym8020042>
14. Alginate dressings for healing diabetic foot ulcers / J. C. Dumville [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2012. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd009110.pub2>
15. New method for coupling collagen on biodegradable polyurethane for biomedical application / X. He [et al.] // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2012. – Vol. 126, N S1. – P. E354–E361. <https://doi.org/10.1002/app.36742>
16. Применение дермальных фибробластов в комплексном лечении больших трофическими язвами венозной этиологии / А. Ж. Мельцова [и др.] // *Вестн. хирургии им. Грекова*. – 2007. – Т. 166, № 1. – С. 72–77.
17. Проллиферативный потенциал, морфологические и фенотипические характеристики эпидермальных кератиноцитов, культивируемых в субпассажах / А. В. Бутенко [и др.] // *Новости мед.-биол. наук*. – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 91–96.

18. Бозо, И. Я. «Фибробласт» – специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимного происхождения? / И. Я. Бозо, Р. В. Деев, Г. П. Пинаев // Цитология. – 2010. – Т. 2, № 52. – С. 99–109.
19. Дermalные фибробласты для лечения дефектов кожи / В. Л. Зорин [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4, № 4. – С. 26–40.
20. Russo, B. Chizzolini. Interplay between keratinocytes and fibroblasts: a systematic review providing a new angle for understanding skin fibrotic disorders / B. Russo, N. C. Brembilla, C. Chizzolini // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 11. – Art. 648. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00648>
21. Isolation and clonal analysis of epidermal keratinocytes stem cells in long-term culture / S. Papini [et al.] // Stem Cells. – 2003. – Vol. 21, N 4. – P. 481–494. <https://doi.org/10.1634/stemcells.21-4-481>
22. Методические рекомендации МР 4.2.0014–10.4.2. Методы контроля. Биологические факторы. Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет *in vitro*. – 2010. – 15 с.

References

1. Aleinik D. Ya., Zorin V. L., Eremin I. I., Korsakov I. N., Charykova I. N. The use of cellular technologies for the restoration of skin cells in burn injury. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 2015, no. 4, art. 331 (in Russian).
2. Volkov A. V. A brief overview of commercially available cellular products for skin restoration. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya* [Cell transplantology and tissue engineering], 2006, vol. 1, no. 4, pp. 62–65 (in Russian).
3. Pinaev G. P., Bogdanova M. S., Kol'tsova A. M. (eds.). *Cellular technologies for regenerative medicine*. St. Petersburg, Publishing house of the Polytechnic University, 2011. 332 p. (in Russian).
4. Malakhov S., Paramonov B., Emel'yanov A., Vasil'ev A., Terskikh V. New approaches to the treatment of severe burns: transplantation of cultured keratinocytes. *Voenno-meditsinskii zhurnal* [Military medical journal], 1997, vol. 318, no. 9, pp. 16–19 (in Russian).
5. Tumanov V. P., Zhakota D. A., Korchagina N. S. 30 years of experience in the development and application of cell technologies in clinical practice. *Plasticheskaya khirurgiya i kosmetologiya* [Plastic surgery and cosmetology], 2012, no. 3, pp. 433–449 (in Russian).
6. Terskikh V. V., Vasil'ev A. V. *Epidermal keratinocytes of humans and animals. Problems of cultivation and transplantation*. Moscow, Nauka Publ., 1995. 102 p. (in Russian).
7. Rheinwatd J. G., Green H. Serial cultivation of stains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cells*, 1975, vol. 6, no. 3, pp. 331–343. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(75\)80001-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(75)80001-8)
8. Volotovskii I. D., Kvacheva Z. B. Morphofunctional bases for creating artificial skin (dermal equivalents). *Vestsi Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 3, pp. 96–103 (in Russian).
9. Cen L., Liu W., Cui L., Zhang W., Cao Y. Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. *Pediatric Research*, 2008, vol. 63, no. 5, pp. 492–496. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31816c5bc3>
10. Gallo R. L. Human skin is the largest epithelial surface for interaction with microbes. *Journal of Investigative Dermatology*, 2017, vol. 137, no. 6, pp. 1213–1214. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.11.045>
11. Dai T., Tanaka M., Huang Y. Y., Hamblin M. R. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2011, vol. 9, no. 7, pp. 857–879. <https://doi.org/10.1586/eri.11.59>
12. Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*, 2013, vol. 49, no. 4, pp. 780–792. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009>
13. Dong C., Lv Y. Application of collagen scaffold in tissue engineering: recent advances and new perspectives. *Polymers*, 2016, vol. 8, no. 2, art. 42. <https://doi.org/10.3390/polym8020042>
14. Dumville J. C., O'Meara S., Deshpande S., Speak K. Alginate dressings for healing diabetic foot ulcers. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2012. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd009110.pub2>
15. He X., Zhai Z., Wang Y., Wu G., Zheng Z., Wang Q., Liu Y. New method for coupling collagen on biodegradable polyurethane for biomedical application. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, vol. 126, no. S1, pp. E354–E361. <https://doi.org/10.1002/app.36742>
16. Mel'tsova A. Zh., Gritsenko V. V., Orlovskii P. I., Tomson V. V., Sabel'nikov V. V., Shulepova E. K., Prokopets A. I., Pinaev G. P., Blinova M. I., Yuditseva N. M. The use of dermal fibroblasts in the complex treatment of patients with trophic ulcers of venous etiology. *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova* [Bulletin of surgery named after I. I. Grekov], 2007, vol. 166, no. 1, pp. 72–77 (in Russian).
17. Butenka A. V., Kvacheva Z. B., Gurmanchuk E. I., Petrakova O. V., Mezen N. I., Goncharov A. E., Kabanova Yu. A., Romanyuk E. N. Proliferative potential, morphological and phenotypic characteristics of epidermal keratinocytes cultured in subpassages. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of biomedical sciences], 2010, vol. 2, no. 3, pp. 91–96 (in Russian).
18. Bozo I. Ya., Deev R. V., Pinaev G. P. Is “fibroblast” a specialized cell or a functional condition of mesenchymal cells derivatives? *Tsitologiya* [Cytology], 2010, vol. 2, no. 52, pp. 99–109 (in Russian).
19. Zorin V. L., Zorina A. I., Petrakova O. S., Cherkasov V. R. Dermal fibroblasts for the treatment of skin defects. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya* [Cell transplantology and tissue engineering], 2009, vol. 4, no. 4, pp. 26–40 (in Russian).

20. Russo B., Brembilla N. C., Chizzolini C. Interplay between keratinocytes and fibroblasts: a systematic review providing a new angle for understanding skin fibrotic disorders. *Frontiers in Immunology*, 2020, vol. 11, art. 648. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00648>

21. Papini S., Cecchetti D., Campani D., Fitzgerald W., Grivel J. Ch., Chen S., Margolis L., Revoltella R. P. Isolation and clonal analysis of epidermal keratinocyte stem cells in long-term culture. *Stem Cells*, 2003, vol. 21, no. 4, pp. 481–494. <https://doi.org/10.1634/stemcells.21-4-481>

22. *Methodical recommendations MP 4.2.0014–10.4.2. Control methods. Biological factors. Evaluation of genotoxic properties by the in vitro DNA comet method.* 2010. 15 p. (in Russian).

Информация об авторах

Бутенко Анна Викторовна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: annabutenka@tut.by

Квачева Зинаида Болеславовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kvachzb@tut.by

Василевич Ирина Борисовна – науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irina-vasilevich@yandex.by

Часнойть Алексей Чеславович – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dr.chasnoits@gmail.com

Волотовский Игорь Дмитриевич – академик, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volotovski@yahoo.com

Information about the authors

Anna V. Butenka – 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: annabutenka@tut.by

Zinaida B. Kvacheva – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kvachzb@tut.by

Irina B. Vasilevich – 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: irina-vasilevich@yandex.by

Alexej Ch. Chasnoit – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dr.chasnoits@gmail.com

Igor D. Volotovski – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volotovski@yahoo.com

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.19:547.56:537.5/8:633.31/37

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-402-411>

Поступила в редакцию 29.04.2021

Received 29.04.2021

**Н. А. Копылова¹, Н. А. Ламан¹, Е. Л. Недведь¹, Ж. Н. Калацкая¹, И. И. Филатова²,
В. А. Люшкевич², С. В. Гончарик²**

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

²Институт физики имени Б. И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПЛАЗМЕННОЙ И РАДИОВОЛНОВОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН НА СОДЕРЖАНИЕ ИЗОФЛАВОНОВ В ЛИСТЬЯХ СОИ (*GLYCINE MAX* L.)

Аннотация. Изучено влияние обработки семян высокочастотным (ВЧ) электромагнитным полем и ВЧ плазмой на качественный и количественный состав изофлавонов в листьях растений сои в фазы ветвления, цветения и налива семян.

Установлено, что обработка семян сои приводит к изменению количественного содержания агликонов изофлавонов в листьях, но не влияет на их качественный состав. Максимальное содержание даидзеина обнаружено в фазу цветения при обработке семян электромагнитным полем, генистеина – в фазу ветвления, при этом особенно высокое содержание этого компонента выявлено в растениях, семена которых были обработаны плазмой.

Ключевые слова: *Glycine max*, изофлавоны, генистеин, даидзеин, высокочастотная плазма, высокочастотное электромагнитное поле, высокоэффективная жидкостная хроматография

Для цитирования: Оценка влияния плазменной и радиоволновой обработки семян на содержание изофлавонов в листьях сои (*Glycine max* L.) / Н. А. Копылова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. бiял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 402–411. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-402-411>

**Natalia A. Kopylova¹, Nikolai A. Laman¹, Helena L. Nedved¹, Joanna N. Kalatskaya¹, Irina I. Filatova²,
Veronika A. Lyushkevich², Svetlana V. Goncharik²**

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

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

ESTIMATION OF THE EFFECT OF PLASMA AND RADIO WAVE TREATMENT OF SEEDS ON THE CONTENT OF ISOFLAVONES IN SOYBEAN LEAVES (*GLYCINE MAX* L.)

Abstract. The effect of treatment of seeds with a high-frequency (HF) electromagnetic field and HF plasma on the qualitative and quantitative composition of isoflavones in the leaves of soybeans in the phases of branching, flowering and seed filling has been studied.

It was found that the treatment of soybean seeds leads to a change in the quantitative content of isoflavone aglycones in the leaves, but does not affect their qualitative composition. The maximum content of daidzein was found in the flowering phase when the seeds were treated with an electromagnetic field, genistein – in the branching phase, while a particularly high content of this component was found in plants whose seeds were treated with plasma.

Keywords: *Glycine max*, isoflavones, genistein, daidzein, high-frequency plasma, high-frequency electromagnetic field, high-performance liquid chromatography

For citation: Kopylova N. A., Laman N. A., Nedved H. L., Kalatskaya J. N., Filatova I. I., Lyushkevich V. A., Goncharik S. V. Estimation of the effect of plasma and radio wave treatment of seeds on the content of isoflavones in soybean leaves (*Glycine max* L.). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 402–411 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-402-411>

Введение. Одной из основных современных тенденций развития медицины и фармакологии является использование биологически активных веществ (БАВ) и лекарственных средств из растительного сырья. Особое место среди фармакологически активных веществ занимают изофлавоны, принадлежащие к обширному классу природных фитоэстрогенов. Изофлавоны обладают широким спектром биологической активности, в том числе эстрогенной, антиоксидантной, противовоспалительной, капилляроукрепляющей, антитромбогенной, иммуномодулирующей, антиаллергической, гипохолестеринемической, гепатопротекторной. Отмечена связь между употреб-

лением в пищу продуктов, богатых изофлавонами, и снижением риска онкологических, сердечно-сосудистых, урологических заболеваний, замедлением развития остеопороза [1–4].

Богатым природным источником фенольных соединений является соя, причем по содержанию изофлавонов это растение находится в числе лидеров среди других сельскохозяйственных культур и может рассматриваться как перспективное сырье для пищевой, фармацевтической и косметической промышленности. Основными изофлавонами (агликонами) сои являются генистеин, даидзеин, глицитеин [5, 6].

Использование растительного сырья в промышленных масштабах предполагает наличие стабильно высокого содержания фармакологически ценных вторичных метаболитов. Имеющиеся многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что воздействие различных факторов, таких как ультрафиолет, ультразвук, электромагнитное поле (ЭМП), низкая температура, патогены и др., может влиять на синтез вторичных метаболитов в клетках растений [7, 8]. Это свидетельствует об активной реакции растительного организма, проявляющейся в изменениях качественного и количественного состава многих биологически активных соединений [9, 10]. Кроме того, установлено, что физические воздействия на семенной материал проявляются в долгосрочных эффектах, которые могут наблюдаться в течение нескольких вегетационных сезонов [11–14].

В ряде экспериментальных исследований показано стимулирующее влияние обработки семян ЭМП радиочастотного диапазона и низкотемпературной плазмой на метаболические процессы у растений различных видов, что позволяет повысить в 1,5–2 раза содержание некоторых лекарственных веществ в растительном сырье [12, 15–18].

В то же время закономерности и особенности влияния обработки семян низкотемпературной плазмой и ЭМП на качественный состав и количественное содержание наиболее фармакологически ценных индивидуальных соединений в растениях изучены пока недостаточно, что существенно сдерживает разработку способа целенаправленного повышения количества БАВ в растительном сырье, основанного на использовании способности растений стимулировать их синтез в ответ на действие физических факторов.

С целью изучения особенностей действия физических факторов на синтез соединений вторичного метаболизма в настоящей работе исследовано влияние обработки семян высокочастотным электромагнитным полем и высокочастотной плазмой на качественный и количественный состав изофлавонов в листьях растений сои.

Объекты и методы исследований. Объектом исследований служили растения сои (сорт Припять), семена которых подвергали обработке высокочастотной (ВЧ) ЭМП и ВЧ плазмой. В качестве контроля использовали необработанные семена. Посев семян проводили не ранее чем через 10 дней после их обработки. Растения выращивали в полевых условиях – в мелкоделяночном опыте на экспериментальной площадке Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Для анализа брали листья растений сои в фазы ветвления, цветения и налива семян.

Обработку семян ВЧ ЭМП и плазмой ВЧ разряда (ВЧ плазма) проводили в Институте физики НАН Беларуси на экспериментальном стенде ВЧИ-63/5.28-ИГ-801, позволяющем возбуждать ВЧ ЭМП на частоте 5,28 МГц и ВЧ емкостной разряд [12]. При обработке ВЧ ЭМП (радиоволновым излучением) семена помещали в центральную зону трехвиткового индуктора ВЧ индукционной установки, воздействие осуществлялось в воздухе при атмосферном давлении в течение 10 мин. Обработку плазмой ВЧ емкостного разряда, возбуждаемого на частоте $f = 5,28$ МГц, проводили в воздухе при давлении 200 Па. Чашку Петри с семенами (50–100 штук) помещали на нижний заземленный электрод разрядной камеры, образованной двумя медными электродами диаметром 120 мм, расположенными на расстоянии 20 мм друг от друга. Для создания рабочего давления производили откачку воздуха из камеры в течение 7 мин. Длительность воздействия плазмы составила 5 мин [12].

Анализ содержания изофлавонов (агликонов) методом ВЭЖХ проводили с помощью хроматографа UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Германия), оснащенного насосом LPG-3400SD, автосамплером ACC-3000, детектором DAD-3000RS, колонкой Nucleodur C18 Gravity (4,6×250 мм), размер частиц 5 мкм (Macherey-Nagel, Германия). Для определения содержания изофлавонов

в листьях сои использовали метод обращенно-фазовой ВЭЖХ в градиентном режиме. Подвижная фаза представляла собой смесь ацетонитрила (А) и воды I типа, рН 3,0. Выбран наиболее оптимальный для наших условий градиент: 0–2 мин – 0 % А; 2–20 мин – 70 % А. Скорость потока составляла 1 мл/мин; температура колонки – 30 °С, объем инъекции – 20 мкл. Концентрацию даидзеина и генистеина определяли методом абсолютной калибровки. Калибровочную зависимость строили по 5 точкам, значение каждой точки определяли по результатам 5 измерений. Коэффициенты линейной регрессии составляли 0,9980 (даидзеин), 0,9999 (генистеин). Использованы аналитические стандарты для ВЭЖХ фирмы Sigma-Aldrich, чистота ≥ 98 %. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Excel. Приведенные данные представляют собой средние значения из трех биологических повторностей с указанием стандартного отклонения.

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ качественного состава экстрактов листьев сои при обработке семян ВЧ ЭМП и ВЧ плазмой. Методом ВЭЖХ выполнен анализ пиков хроматограмм экстрактов листьев сои в периоды ветвления, цветения и налива семян; идентифицированы даидзеин и генистеин.

Для фазы ветвления существенного различия по вариантам в количестве пиков на хроматограммах не обнаружено, т. е. на этом этапе воздействие физических факторов не вызывает заметных изменений в качественном составе экстрактов (55 пиков – контроль, 57 – обработка семян ВЧ плазмой (вариант плазма), 58 – обработка семян ВЧ ЭМП (вариант ЭМП)).

Пики хроматограмм экстрактов листьев сои различных вариантов в фазу цветения

The peaks of chromatograms of soybean leaf extracts of different variants in flowering phase

Номер пика	Контроль		Плазма		ЭМП	
	Время удерживания, мин	Площадь пика, мАУ·мин	Время удерживания, мин	Площадь пика, мАУ·мин	Время удерживания, мин	Площадь пика, мАУ·мин
1	2,143	0,0052	2,117	0,6131	2,117	1,7413
2	2,273	0,0205	2,263	1,0518	2,240	2,2636
3	2,403	0,0699	2,417	10,0031	2,393	14,7798
4	2,503	0,1361	2,563	2,4761	2,550	6,5825
5	2,610	1,0432	2,710	1,3120	2,710	1,9383
6	2,897	0,5620	2,903	17,5417	2,820	3,5425
7	2,993	11,6914	3,000	61,7008	2,913	49,1364
8	3,673	3,3183	3,587	16,1224	3,013	244,0305
9	4,110	2,7357	3,853	20,5859	4,487	31,8716
10	4,513	2,5606	4,493	10,5792	5,033	15,2435
11	5,353	13,2579	4,650	19,5146	5,520	17,7273
12	5,830	9,8441	5,520	11,3649	5,833	35,4962
13	5,907	17,5840	5,837	21,2030	5,927	75,1870
14	6,087	6,9633	5,917	46,9960	6,233	59,7493
15	6,547 (даидзеин)	37,6957	6,077	0,0048	6,547 (даидзеин)	17,3721
16	6,710	14,1771	6,550 (даидзеин)	41,7777	6,873	5,4406
17	7,030	2,6246	6,593	12,1055	7,183 (генистеин)	7,0014
18	7,177 (генистеин)	2,3883	6,877	3,7076	7,600	1,0970
19	7,333	1,3386	7,190 (генистеин)	4,0760	7,740	1,6874
20	7,433	1,2304	7,437	0,9357	7,910	1,8757
21	7,583	1,3315	7,563	1,5552	8,010	4,0761
22	7,740	1,3831	7,730	2,3073	8,673	0,7493
23	7,927	1,1986	7,957	2,8943	8,870	1,4142
24	8,180	2,1565	8,690	0,6330	9,353	0,5896
25	8,387	1,1652	8,843	1,1949	9,490	0,7288
26	8,667	1,2707	9,343	0,5202	9,953	0,4733
27	8,860	1,2709	9,593	0,6046	10,400	1,2210
28	9,347	0,9840	9,977	0,4039	11,107	1,0531
29	9,610	0,6441	10,393	1,1664	12,027	1,2885

Окончание таблицы

Номер пика	Контроль		Плазма		ЭМП	
	Время удерживания, мин	Площадь пика, мАУ·мин	Время удерживания, мин	Площадь пика, мАУ·мин	Время удерживания, мин	Площадь пика, мАУ·мин
30	9,967	0,3628	11,100	1,9919	13,650	0,9123
31	10,380	0,7460	13,663	1,0120	14,317	0,2678
32	10,713	0,5090	14,307	0,4825	14,577	0,2792
33	11,100	0,4232	15,740	0,5736	15,330	0,2276
34	11,423	0,4655	16,517	0,3231	15,730	0,4444
35	12,000	1,2115	18,303	0,0597	16,507	0,4521
36	13,657	0,6258	19,517	0,0141	18,340	0,1316
37	14,323	0,1923				
38	14,563	0,2130				
39	15,383	0,1111				
40	15,817	0,4541				
41	16,560	0,2089				
42	18,300	0,0612				
43	19,583	0,0094				

Для фазы цветения отмечено уменьшение количества определяемых диодно-матричным детектором компонентов: в контроле – 43 пика, в вариантах плазма и ЭМП – по 36 (см. таблицу). Сравнительный анализ пиков профиля элюции показал, что в вариантах плазма и ЭМП отсутствует ряд компонентов с временами удерживания в интервалах 11–12 и 14–15 мин. Эти соединения не идентифицированы нами, но, по-видимому, их можно отнести к классу более неполярных по сравнению с изофлавонами соединений, так как они выходят намного позже (время удерживания стандарта даидзеина – 6,50 мин, генистеина – 7,18 мин). Основные определяемые изофлавоны сои – даидзеин и генистеин – идентифицированы во всех вариантах.

В фазу налива семян в экстракте листьев сои наблюдалось изменение качественного состава компонентов в вариантах плазма и ЭМП – увеличение количества пиков в обоих опытных вариантах (контроль – 58, плазма – 65, ЭМП – 64), главным образом за счет компонентов с временем удерживания 17–18 мин, а в варианте ЭМП – 12–14 мин.

Полученные данные свидетельствуют о том, что качественный состав экстрактов листьев сои после обработки семян ВЧ плазмой и ВЧ ЭМП изменяется за счет увеличения доли компонентов с большей и меньшей степенью полярности, чем у изофлавонов. Судя по площади пиков, содержание данных неидентифицированных компонентов крайне мало. Таким образом, результаты проведенных экспериментов подтверждают существование долговременной ответной реакции растений на обработку семян ВЧ плазмой и ВЧ ЭМП.

Анализ количественного состава экстрактов листьев сои при обработке семян ВЧ плазмой и ВЧ ЭМП. Данные количественного анализа содержания изофлавонов методом ВЭЖХ в экстрактах листьев сои из семян, подвергнутых плазменно-радиоволновой обработке, приведены на рис. 1, 2. Сложность метаболических процессов в растительных тканях и их изменение под влиянием физических факторов обуславливает неоднозначность полученных результатов.

Количественный анализ изофлавонов в экстрактах листьев сои в различные фазы вегетации позволил определить временные промежутки при исследованных режимах плазменно-радиоволновой обработки семян, когда содержание генистеина и даидзеина максимально. Согласно полученным данным, для всех вариантов максимальное содержание даидзеина наблюдали в фазу цветения при обработке семян ЭМП (124,5 % к контролю), генистеина – в фазу ветвления, при этом особенно высокое содержание этого компонента отмечено в варианте плазменной обработки семян (158 % к контролю, контроль принят за 100 %). Это крайне важно, учитывая выраженные биологическую активность и антиканцерогенные свойства этого изофлавона.

Выявлена характерная для всех вариантов, включая контроль, особенность – пониженное содержание даидзеина и генистеина в листьях в фазу налива семян. Минимальная концентрация генистеина наблюдалась также и в фазу цветения. Возможно, в эти периоды развития растений

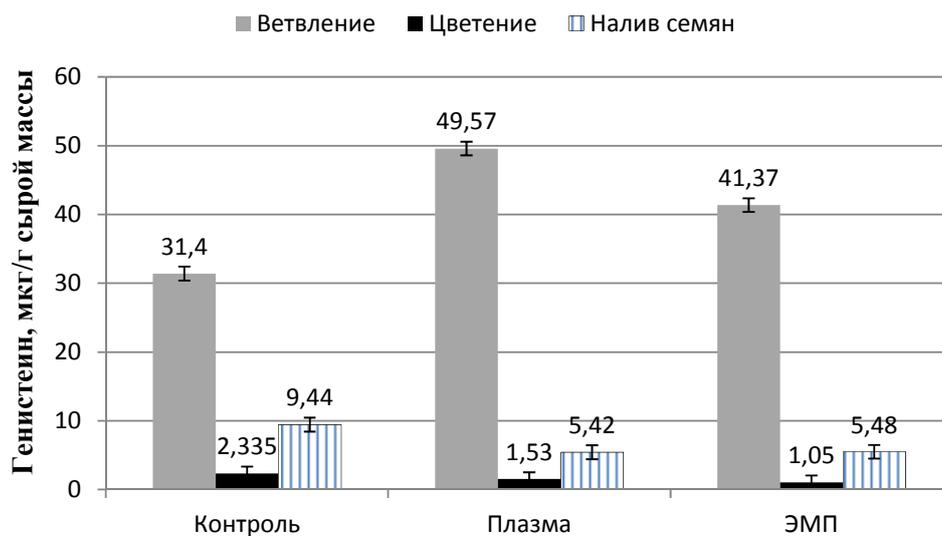


Рис. 1. Динамика содержания генистеина в листьях сои (фазы ветвления, цветения, налива семян), выращенной из семян, прошедших плазменно-радиоволновую обработку

Fig. 1. Dynamics of genistein content in soybean leaves (phases of branching, flowering, seed filling) grown from seeds that have undergone plasma-radio wave treatment

происходит регулируемая гормонами активация накопления даидзеина и генистеина в плодах при снижении их содержания в других органах (контроль). Другая причина наблюдаемого явления может быть связана с ослаблением стимулирующего действия плазменно-радиоволнового воздействия на поздних этапах онтогенеза, что требует дополнительных исследований. Полученные в рамках исследованных режимов плазменно-радиоволновой обработки семян экспериментальные данные позволяют сделать вывод о целесообразности сбора фармакологически ценного сырья именно в фазы ветвления и цветения растений.

Известно, что метаболизм фенольных соединений отличается высокой пластичностью, которая может реализовываться через изменение качественного и количественного состава накапливаемых соединений [9, 10]. В связи с этим в работе исследован изофлавоновый профиль листовых экстрактов сои на различных стадиях развития растений, семена которых обработаны ВЧ ЭМП и плазмой ВЧ разряда.

Обнаружено изменение общего количества компонентов в экстрактах листьев сои, в то время как состав идентифицированных изофлавонов оставался неизменным. В работах, посвященных исследованию метаболизма различных мутантных растений, указывается, что появление новых, не характерных для исходной формы соединений может быть обусловлено двумя основными причинами: модификацией экспрессии генома и значительной перестройкой работы ферментных систем [19–23]. По-видимому, плазменно-радиоволновая обработка при исследованных режимах оказывает достаточно мягкое воздействие, которое не вызывает изменений качественного состава фракции изофлавонов.

Вместе с тем выявлены значительные количественные изменения содержания изофлавонов в фазы ветвления и цветения растений. Метаболизм изофлавонов определяется генотипическими и экологическими факторами, а также взаимодействием генотипа с окружающей средой, т. е. изофлавоновый профиль является важным показателем формирования толерантности к различным биотическим или абиотическим стрессам [24]. Многолетние исследования показали, что изофлавоны связаны с развитием фунгитоксичности и устойчивости к насекомым-вредителям при культивировании сои и других бобовых культур [25, 26]. В других работах отмечено, что растения с высоким уровнем изофлавонов в тканях имеют преимущества выживания в условиях засухи [27], обладают солеустойчивостью [28] и повышенным уровнем защиты от УФВ-индуцированного повреждения ДНК [29]. Более того, изофлавоны играют важную роль в системе антиоксидантной защиты и акклиматизации [30, 31].

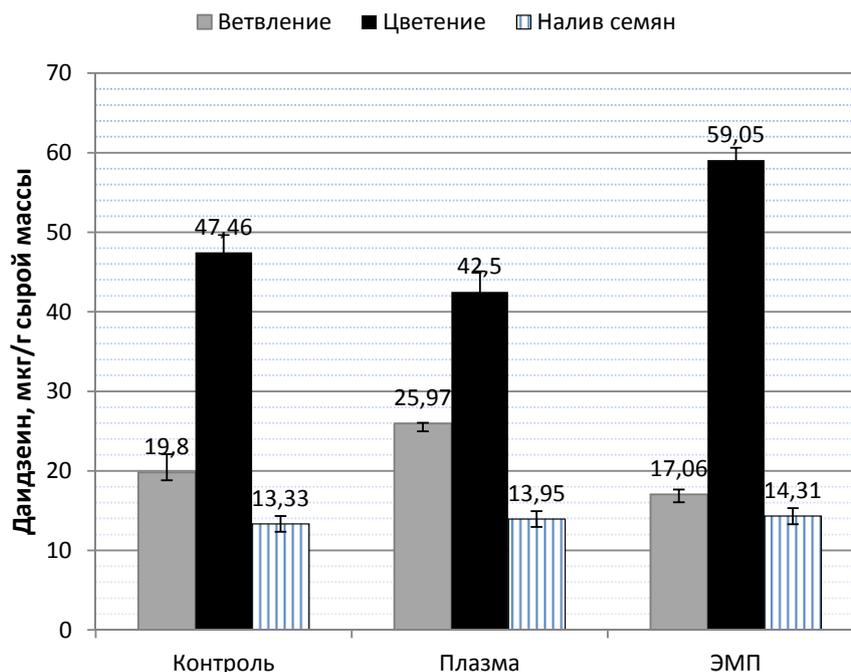


Рис. 2. Динамика содержания даидзеина в листьях сои (фазы ветвления, цветения, налива семян), выращенной из семян, прошедших плазменно-радиоволновую обработку

Fig. 2. Dynamics of daidzein content in soybean leaves (phases of branching, flowering, seed filling) grown from seeds that have undergone plasma-radio wave treatment

В экспериментах J. Liu и др., целью которых было исследование влияния неблагоприятных условий освещения на изофлавоновый профиль проростков сои, с помощью моделирования и многомерного статистического анализа показано увеличение количественного состава генистеина и других изофлавонов в ответ на экстремальные условия освещения (затенение). Кроме того, авторами установлено, что степень толерантности проростков сои к неблагоприятным условиям коррелировала именно с содержанием агликонов, а не с общей концентрацией изофлавонов [24]. Таким образом, агликоны изофлавонов рассматривают как ключевые соединения вторичного метаболизма растений семейства бобовых, ответственные за стрессоустойчивость, акклиматизацию и адаптацию [24, 32]. Их отличительной чертой являются антиоксидантные и хелатирующие свойства.

В настоящее время считают, что антиоксидантные способности определяются химической структурой антиоксиданта, а присутствие гидроксильных заместителей в флавоноидном ядре усиливает антиоксидантную активность. Так, высокая антиоксидантная активность генистеина связана с двумя активными гидроксигруппами [33, 34].

В наших экспериментах обнаружены наиболее выраженные изменения количественного содержания генистеина и даидзеина в опытных вариантах (ВЧ плазма и ВЧ ЭМП). Поскольку обработка семян плазмой и ЭМП рассматривается как умеренный стресс [35], то, возможно, именно этим обусловлено накопление наиболее активных соединений-антиоксидантов. В работе [12] показано, что при обработке семян плазмой и ЭМП повышается окислительно-восстановительный статус клеток; с помощью метода парамагнитного резонанса обнаружено увеличение концентрации парамагнитных центров в семенах многолетних растений.

Полученные в настоящей работе данные являются косвенным свидетельством высокой чувствительности системы синтеза изофлавонов к воздействию ВЧ плазмы и ВЧ ЭМП, а активация синтеза и накопление наиболее мощных антиоксидантов свидетельствуют о проявлении защитной реакции растения.

Существует несколько механизмов, с помощью которых растения регулируют количественный состав фенольных соединений: регуляция экспрессии генома, активности ферментных систем,

постсинтетическая модификация [9]. Например, через изменение экспрессии генома у винограда регулируется активность флавонон-3'-гидроксилазы, флавонон-3'5'-гидроксилазы и цитохрома b5. Установлено, что ген, кодирующий флавонон-3'-гидроксилазу, начинает экспрессироваться еще до цветения, а после цветения работают уже три гена. Имеются данные о том, что на экспрессию генов ключевых ферментов влияют как сами фенольные метаболиты, так и другие внешние и внутренние факторы [10].

Известно, что физические и химические стрессовые факторы способны действовать на регуляторные механизмы экспрессии генов, ответственных за функционирование фенил-пропаноидного пути биосинтеза изофлавонов, на изменение активности ключевых ферментов и, следовательно, на регуляцию через концентрацию метаболитов конечных этапов биосинтеза [36].

В работах других авторов также можно встретить данные о сложном взаимном влиянии фитогормонов гиббереллинового типа и флавоноидов [37, 38]. Результаты взаимовлияния гиббереллиновых фитогормонов и фенольных соединений могут быть различны: аддитивный эффект, синергизм или взаимное ингибирование [38]. Мы предполагаем, что обработка семян сои ВЧ плазмой и ВЧ ЭМП может приводить к множественным эффектам, в том числе к изменению как окислительно-восстановительного статуса клеток, так и гормонального фона в организме растения, что в свою очередь влияет на активность ферментных систем, включая ключевые ферменты биосинтеза изофлавонов и других фенольных соединений.

Заключение. Проведенные нами эксперименты показали, что обработка семян сои приводит к изменению количественного состава агликонов изофлавонов и не влияет на их качественный состав. Согласно полученным данным, для всех вариантов максимальное содержание даидзеина наблюдали в фазу цветения при обработке семян ЭМП, генистеина – в фазу ветвления, при этом особенно высокое содержание этого компонента отмечалось при плазменной обработке семян. Экспериментальные результаты отражают пластичность метаболизма фенольных соединений, что делает возможным разработку приемов направленного влияния на синтез данных соединений.

Список использованных источников

1. Psychological assessment of the effects of treatment with phytoestrogens on postmenopausal women: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled study / M. L. Casini [et al.] // *Fertil Steril.* – 2006. – Vol. 85, N 4. – P. 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.09.048>
2. Messina, M. Insights gained from 20 years of soy research / M. Messina // *J. Nutr.* – 2010. – Vol. 140, N 12. – P. 2289S–2295S. <https://doi.org/10.3945/jn.110.124107>
3. Risks and benefits of dietary isoflavones for cancer / S. Andres [et al.] // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2011. – Vol. 41, N 6. – P. 463–506. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.541900>
4. Soy isoflavone: the multipurpose phytochemical (review) / Q. Wang [et al.] // *Biomed. Reports.* – 2013. – Vol. 1, N 5. – P. 697–701. <https://doi.org/10.3892/br.2013.129>
5. Давыденко, О. Г. Соя для умеренного климата / О. Г. Давыденко, Д. В. Галюенко, В. Е. Розенцвейг. – Минск : Техналогія, 2004. – 173 с.
6. Петибская, В. С. Соя: химический состав и использование / В. С. Петибская. – Майкоп : ОАО «Полиграф-ЮГ», 2012. – 432 с.
7. Effect of UV-C radiation, ultra-sonication electromagnetic field and microwaves on changes in polyphenolic compounds in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) / T. Cebulak [et al.] // *Molecules.* – 2017. – Vol. 22, N 7. – P. 1161. <https://doi.org/10.3390/molecules22071161>
8. Yu, J. High intensity ultrasound as an abiotic elicitor-effects on antioxidant capacity and overall quality of romaine lettuce / J. Yu, N. J. Engeseth, H. Feng // *Food Bioprocess Technol.* – 2016. – Vol. 9, N 2. – P. 262–273. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1616-7>
9. Вариабельность содержания вторичных метаболитов у *Juniperus sabina* L. в условиях Южного Урала / А. В. Щербаков [и др.] // *Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук.* – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 198–204.
10. Bogs, J. Identification of the flavonoids from grapevine and their regulation during fruit development / J. Bogs // *Plant Physiol.* – 2006. – Vol. 140, N 1. – P. 279–291. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073262>
11. Изучение эффективности предпосевного облучения семян гелиевой плазмой на рост и развитие льна / А. Р. Цыганов [и др.] // *Почвоведение и агрохимия.* – 2009. – № 2. – С. 273–281.
12. Стимуляция метаболизма лекарственных растений с помощью обработки семян низкотемпературной плазмой и электромагнитным полем / В. А. Люшкевич [и др.] // *Докл. БГУИР.* – 2016. – № 7. – С. 188–191.
14. Плазменная технология обработки семян и плазменные семена [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.lana-pav.com/plazmennaya-texnologiya-obrabotki-semyan-i-lazmennye-semena.html>. – Дата доступа: 10.01.2020.

15. Fungicidal effects of plasma and radio-wave pre-treatments on seeds of grain crops and legumes / I. I. Filatova [et al.] // *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security* / eds. : Z. Machala, K. Hensel, Y. Akishev. – Dordrecht, 2012. – P. 469–479.
16. Инновационная экологически безопасная (нано)технология возделывания амаранта / Н. Л. Воропаева [и др.] // *Эколог. вестн. Север. Кавказа*. – 2015. – Т. 11, № 1. – С. 26–30.
17. Усманов, И. Ю. Лекарственные растения: перспективы создания импортозамещающих производств / И. Ю. Усманов, А. В. Нафиков, Ю. А. Прочухан // *Экономика и управление*. – 2000. – № 2. – С. 5–9.
18. Changes in Norway spruce germination and growth induced by pre-sowing seed treatment with cold plasma and electromagnetic field: short-term and long-term effects / G. Pauzaitė [et al.] // *Plasma Process Polym.* – 2018. – Vol. 15, N 2. – P. 1700068. <http://doi.org/10.1002/ppap.201700068>
19. Pre-sowing seed treatment with cold plasma and electromagnetic field increases secondary metabolite content in purple coneflower (*Echinacea purpurea*) leaves / V. Mildaziene [et al.] // *Plasma Process Polym.* – 2018. – Vol. 15, N 2. – P. 1700059. <http://doi.org/10.1002/ppap.201700059>
20. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes / J. Kováčik [et al.] // *Plant Sci.* – 2007. – Vol. 172, N 2. – P. 393–399. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.001>
21. Redirection of flavonoid biosynthesis through the down regulation of an antocyanidin glucosyltransferase in ripening strawberry fruit / M. Griesser [et al.] // *Plant Physiol.* – 2008. – Vol. 146, N 4. – P. 1528–1539. <https://doi.org/10.1104/pp.107.114280>
22. Flavonoid accumulation in arabidopsis repressed in lignin synthesis affects auxin transport and plant growth / S. Besseau [et al.] // *Plant Cell.* – 2007. – Vol. 19, N 1. – P. 148–162. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.044495>
23. Wade, H. K. Arabidopsis ICX1 is a negative regulator of several pathways regulating flavonoid biosynthesis genes / H. K. Wade, A. K. Sohal, G. I. Jenkins // *Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 131, N 2. – P. 707–715. <https://doi.org/10.1104/pp.012377>
24. Down-regulation of cinnamoyl-CoA reductase in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) induces dramatic changes in soluble phenolic pools / B. van der Rest [et al.] // *J. Exp. Botany.* – 2006. – Vol. 57, N 6. – P. 1399–1411. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj120>
25. Metabonomic tool to identify soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasts with a high level of shade tolerance at the seedling stage / J. Liu [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – Art. 42478. <https://doi.org/10.1038/srep42478>
26. Isoflavonoid accumulation in soybean hairy roots upon treatment with *Fusarium solani* / V. V. Lozovaya [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 2004. – Vol. 42, N 7–8. – P. 671–679. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.06.007>
27. Adesanya, S. A. Structure-related fungitoxicity of isoflavonoids / S. A. Adesanya, M. J. O'Neill, M. F. Roberts // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1986. – Vol. 29, N 1. – P. 95–103. [https://doi.org/10.1016/s0048-4059\(86\)80041-8](https://doi.org/10.1016/s0048-4059(86)80041-8)
28. Tian, F. Physiological regulation of seed soaking with soybean isoflavones on drought tolerance of *Glycine max* and *Glycine soja* / F. Tian, T. Jia, B. Yu // *Plant Growth Regul.* – 2014. – Vol. 74, N 3. – P. 229–237. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9914-z>
29. Comparative metabolic profiling reveals secondary metabolites correlated with soybean salt tolerance / W. Wu [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2008. – Vol. 56, N 23. – P. 11132–11138. <https://doi.org/10.1021/jf8024024>
30. Kootstra, A. Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids / A. Kootstra // *Plant Mol. Biol.* – 1994. – Vol. 26, N 2. – P. 771–774. <https://doi.org/10.1007/bf00013762>
31. Modulation of isoflavonoid composition of *Rhizopus oryzae* elicited soybean (*Glycine max*) seedlings by light and wounding / S. Aisya [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2013. – Vol. 61, N 36. – P. 8657–8667. <https://doi.org/10.1021/jf4020203>
32. Isoprenoids and phenylpropanoids are key components of the antioxidant defense system of plants facing severe excess light stress / C. Brunetti [et al.] // *Environ. Exp. Botany.* – 2015. – Vol. 119. – P. 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.04.007>
33. Lee, C. H. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides / C. H. Lee // *Food Chem.* – 2005. – Vol. 90. – P. 735–741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.034>
34. Recor, I. R. The antioxidant activity of genistein *in vitro* / I. R. Recor, I. E. Dreosti, J. K. McInerney // *J. Nutr. Biochem.* – 1995. – Vol. 6, N 9. – P. 481–485. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(95\)00076-c](https://doi.org/10.1016/0955-2863(95)00076-c)
35. Heim, K. E. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships / K. E. Heim, A. R. Tagliaferr, D. J. Bobilya // *J. Nutr. Biochem.* – 2002. – Vol. 13, N 10. – P. 572–584. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5)
36. Влияние плазменно-радиоволновой обработки семян кукурузы и последующего их хранения в неблагоприятных условиях на физиолого-биохимические особенности проростков / Ж. Н. Калацкая [и др.] // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук*. – 2018. – Т. 63, № 1. – С. 7–19.
37. Effects of light treatment on isoflavone content of germinated soybean seeds / S. Phommalth [et al.] // *J. Agr. Food Chem.* – 2008. – Vol. 56, N 21. – P. 10123–10128. <https://doi.org/10.1021/jf802118g>
38. Ke, D. Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce / D. Ke, M. E. Saltveit // *Plant Physiol.* – 1988. – Vol. 88, N 4. – P. 1136–1140. <https://doi.org/10.1104/pp.88.4.1136>

References

1. Casini M. L., Marelli G., Papaleo E., Ferrari A., D'Ambrosio F., Unfer V. Psychological assessment of the effects of treatment with phytoestrogens on postmenopausal women: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled study. *Fertility and Sterility*, 2006, vol. 85, no. 4, pp. 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.09.048>
2. Messina M. Insights gained from 20 years of soy research. *Journal of Nutrition*, 2010, vol. 140, no. 12, pp. 2289S–2295S. <https://doi.org/10.3945/jn.110.124107>

3. Andres S., Abraham K., Appel K. E., Lampen A. Risks and benefits of dietary isoflavones for cancer. *Critical Reviews in Toxicology*, 2011, vol. 41, no. 6, pp. 463–506. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.541900>
4. Wang Q., Ge X., Tian X., Zhang Y., Zhang J., Zhang P. Soy osoflavone: the multipurpose phytochemical (review). *Biomedical Reports*, 2013, vol. 1, no. 5, pp. 697–701. <https://doi.org/10.3892/br.2013.129>
5. Davydenko O. G., Goloenko D. V., Rozentsveig V. E. *Soybeans for a temperate climate*. Minsk, Tekhnologiya Publ., 2004. 173 p. (in Russian).
6. Petibskaya V. S. *Soy: chemical composition and use*. Maikop, Poligraf-YuG Publ., 2012. 432 p. (in Russian).
7. Cebulak T., Oszmiański J., Kapusta J., Lachowicz S. Effect of UV-C radiation, ultra-sonication electromagnetic field and microwaves on changes in polyphenolic compounds in chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Molecules*, 2017, vol. 22, no. 7, p. 1161. <https://doi.org/10.3390/molecules22071161>
8. Yu J., Engeseth N. J., Feng H. High intensity ultrasound as an abiotic elicitor – effects on antioxidant capacity and overall quality of romaine. *Food and Bioprocess Technology*, 2016, vol. 9, no. 2, pp. 262–273. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1616-7>
9. Shcherbakov A. V., Buskunova G. G., Amineva A. A., Ivanov S. P., Usmanov I. Yu. Variability of secondary metabolites content in *Achillea nobilis* L. in the South Urals. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk* [Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences], 2009, vol. 11, no. 1, pp. 198–204 (in Russian).
10. Bogs J. Identification of the flavonoids from grapevine and their regulation during fruit development. *Plant Physiology*, 2006, vol. 140, no. 1, pp. 279–291. <https://doi.org/10.1104/pp.105.073262>
11. Tsyganov A. R., Gordeev Yu. A., Poddubnaya O. V., Kovaleva I. V., Poddubnyi O. A. Study of efficiency of the preseed irradiation of seeds helium-plasma on growth and flax development. *Pochvovedenie i agrokhimiya* [Soil science and agrochemistry], 2009, no. 2, pp. 273–281 (in Russian).
12. Lyushkevich V. A., Filatova I. I., Zhukova E. E., Pauzhaite G. Stimulation of the metabolism of medicinal plants using seed treatment with low-temperature plasma and electromagnetic field. *Doklady Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta informatiki i radioelektroniki* [Reports of the Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics], 2016, no. 7, pp. 188–191 (in Russian).
14. *Plasma seed treatment technology and plasma seeds*. Available at: <http://www.lana-pav.com/plazmennaya-tekhnologiya-obrabotki-semyan-i-lazmennye-semena.html> (accessed 10.01.2020) (in Russian).
15. Filatova I., Azharonok V., Shik A., Antoniuk A., Terletskaia N. fungicidal effects of plasma and radio-wave pre-treatments on seeds of grain crops and legumes. *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security*. Dordrecht, 2012, pp. 469–479.
16. Voropaeva N. L., Belonozhkina T. G., Karpachev V. V., Naumov E. V., Vasil'ev M. M., Petrov O. F. Innovative environmentally friendly (nano)technology of amaranth cultivation. *Ekologicheskii vestnik Severnogo Kavkaza* [Ecological bulletin of the North Caucasus], 2015, vol. 11, no. 1, pp. 26–30 (in Russian).
17. Usmanov I. Yu., Nafikov A. V., Prochukhan Yu. A. Medicinal plants: prospects for creating import-substituting industries. *Ekonomika i upravlenie* [Economics and management], 2000, no. 2, pp. 5–9 (in Russian).
18. Pauzaite G., Malakauskiene A., Nauciene Z., Zukiene R., Filatova I. I., Lyushkevich V., Azarko I., Mildaziene V. Changes in Norway spruce germination and growth induced by pre-sowing seed treatment with cold plasma and electromagnetic field: short-term and long-term effects. *Plasma Processes and Polymers*, 2018, vol. 15, no. 2, p. 1700068. <https://doi.org/10.1002/ppap.201700068>
19. Mildaziene V., Pauzaite G., Naucienė Z., Malakauskiene A., Zukiene R., Januskaitiene I., Jakstas V., Ivanauskas I., Filatova I. I., Lyushkevich V. A. Pre-sowing seed treatment with cold plasma and electromagnetic field increases secondary metabolite content in purple coneflower (*Echinacea purpurea*) leaves. *Plasma Processes and Polymers*, 2018, vol. 15, no. 2, p. 1700059. <https://doi.org/10.1002/ppap.201700059>
20. Kováčik J., Klejduš B., Bačkor M., Repčák M. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Science*, 2007, vol. 172, no. 2, pp. 393–399. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.001>
21. Griesser M., Hoffmann T., Bellido M. L., Rosati C., Fink B., Kurtzer R., Aharoni A., Muñoz-Blanco J., Schwab W. Redirection of flavonoid biosynthesis through the down regulation of an antocyanidin glucosyltransferase in ripening strawberry fruit. *Plant Physiology*, 2008, vol. 146, no. 4, pp. 1528–1539. <https://doi.org/10.1104/pp.107.114280>
22. Besseau S., Hoffmann L., Geoffroy P., Lapierre C., Pollet B., Legrand M. Flavonoid accumulation in arabidopsis repressed in lignin synthesis affects auxin transport and plant growth. *Plant Cell*, 2007, vol. 19, no. 1, pp. 148–162. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.044495>
23. Wade H. K., Sohal A. K., Jenkins G. I. Arabidopsis ICX1 is a negative regulator of several pathways regulating flavonoid biosynthesis genes. *Plant Physiology*, 2003, vol. 131, no. 2, pp. 707–715. <https://doi.org/10.1104/pp.012377>
24. van der Rest B., Danoun S., Boudet A.-M., Rochange S. F. Down-regulation of cinnamoyl-CoA reductase in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) induces dramatic changes in soluble phenolic pools. *Journal of Experimental Botany*, 2006, vol. 57, no. 6, pp. 1399–1411. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj120>
25. Liu J., Hu B., Liu W., Qin W., Wu H., Zhang J. [et al.]. Metabolomic tool to identify soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasts with a high level of shade tolerance at the seedling stage. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, no. 1, art. 42478. <https://doi.org/10.1038/srep42478>
26. Lozovaya V. V., Lygin A. V., Zernova O. V., Li S., Hartman G. L., Widholm J. M. Isoflavonoid accumulation in soybean hairy roots upon treatment with *Fusarium solani*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, vol. 42, no. 7–8, pp. 671–679. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.06.007>
27. Adesanya S. A., O'Neill M. J., Roberts M. F. Structure-related fungitoxicity of isoflavonoids. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1986, vol. 29, no. 1, pp. 95–103. [https://doi.org/10.1016/s0048-4059\(86\)80041-8](https://doi.org/10.1016/s0048-4059(86)80041-8)

28. Tian F., Jia T., Yu B. Physiological regulation of seed soaking with soybean isoflavones on drought tolerance of *Glycine max* and *Glycine soja*. *Plant Growth Regulation*, 2014, vol. 74, no. 3, pp. 229–237. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9914-z>
29. Wu W., Zhang Q., Zhu Y., Lam H.-M., Cai Z., Guo D. Comparative metabolic profiling reveals secondary metabolites correlated with soybean salt tolerance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, vol. 56, no. 23, pp. 11132–11138. <https://doi.org/10.1021/jf8024024>
30. Kootstra A. Protection from UV-B-induced DNA damage by flavonoids. *Plant Molecular Biology*, 1994, vol. 26, no. 2, pp. 771–774. <https://doi.org/10.1007/bf00013762>
31. Aisya S., Gruppe H., Madzora B., Vincken J. P. Modulation of isoflavonoid composition of *Rhizopus oryzae* elicited soybean (*Glycine max*) seedlings by light and wounding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, vol. 61, no. 36, pp. 8657–8667. <https://doi.org/10.1021/jf4020203>
32. Brunetti C., Guidi L., Sebastiani F., Tattini M. Isoprenoids and phenylpropanoids are key components of the antioxidant defense system of plants facing severe excess light stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, vol. 119, pp. 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.04.007>
33. Lee C. H. Relative antioxidant activity of soybean isoflavones and their glycosides. *Food Chemistry*, 2005, vol. 90, no. 4, pp. 735–741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.034>
34. Recor I. R., Dreosti I. E., McInerney J. K. The antioxidant activity of genistein *in vitro*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 1995, vol. 6, no. 9, pp. 481–485. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(95\)00076-c](https://doi.org/10.1016/0955-2863(95)00076-c)
35. Heim K. E., Tagliaferri A. R., Bobilya D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, vol. 13, no. 10, pp. 572–584. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5)
36. Kalatskaya Zh. N., Laman N. A., Filatova I. I., Frolova T. V., Lyushkevich V. A., Chubrik N. I., Goncharik S. V. Influence of plasma-radio wave treatment of corn seeds and their subsequent storage in unfavorable conditions on the physiological and biochemical characteristics of seedlings. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 1, pp. 7–19 (in Russian).
37. Phommalth S., Jeong Y.-S., Kim Y.-H., Dhakal K. H., Hwang Y.-H. Effects of light treatment on isoflavone content of germinated soybean seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, vol. 56, pp. 10123–10128. <https://doi.org/10.1021/jf802118g>
38. Ke D., Saltveit M. E. Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce. *Plant Physiology*, 1988, vol. 88, no. 4, pp. 1136–1140. <https://doi.org/10.1104/pp.88.4.1136>

Информация об авторах

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

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

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

Калацкая Жанна Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalatskayaj@mail.ru

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

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

Гончарик Светлана Васильевна – науч. сотрудник. Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси (пр. Независимости, 68, 2200072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pppt-3@imaph.bas-net.by

Information about the authors

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

Nikolai A. Laman – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikolai.laman@gmail.com

Helena L. Nedved – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nedved_e@tut.by

Joanna N. Kalatskaya – Ph. D. (Biol.), Leading 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: kalatskayaj@mail.ru

Irina I. Filatova – Ph. D. (Phys. and Math.), Leading Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: filatova@presidium.bas-net.by

Veronika A. Lyushkevich – Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk Republic of Belarus). E-mail: verolyu@tut.by

Svetlana V. Goncharik – Researcher. B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus (68, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pppt-3@imaph.bas-net.by

В. В. Сахвон¹, М. Е. Никифоров²

¹*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

²*Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, Республика Беларусь*

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СТРУКТУРЫ НАСЕЛЕНИЯ ПТИЦ ГОРОДА МИНСКА ВО ВРЕМЕННОМ АСПЕКТЕ

Аннотация. Структура населения птиц урбанизированных территорий обусловлена многообразием местообитаний в пределах городских границ, видовым разнообразием птиц в пригородных биотопах и региональными процессами расселения птиц, гнездящихся в населенных пунктах. Анализ динамики видового богатства гнездящихся птиц Минска показал, что его формирование шло различными путями. Всего, начиная с 1946 г., на территории Минска было зарегистрировано гнездование (в том числе предположительное) 141 вида птиц.

В орнитонаселении преобладают древесно-кустарниковые (дендрофильные) (45,0 % всех видов), водно-болотные и околородные (29,3 %) виды птиц, при этом гнездованием с древесно-кустарниковой растительностью связано более половины всех видов (50,3 %). В разные временные периоды видовое богатство гнездящихся птиц различалось и к настоящему времени оно заметно увеличилось (с 77 до 132 видов). Это произошло вследствие расширения административных границ города и включения видового богатства птиц пригородных ландшафтов, увеличения разнообразия местообитаний, подходящих для гнездования птиц (например, появления крупных водоемов), а также из-за активного освоения урбоэкосистем различными видами птиц. При этом начиная с 2000 г. 9 видов птиц прекратили гнездиться, тогда как 17 – появилось на гнездовании. Активные процессы синурбизации некоторых видов птиц, наблюдаемые в последние десятилетия на европейском континенте, стали также причиной пополнения орнитонаселения Минска новыми видами, хотя основа его современного состава была сформирована еще в 1986–1999 гг. При этом происхождение синурбизированных группировок различных видов птиц могло быть автохтонным, аллохтонным или смешанным.

Ключевые слова: население птиц города, видовое богатство птиц, синурбизация, городская орнитология, урбо-экосистема, Минск

Для цитирования: Сахвон, В. В. Особенности формирования структуры населения птиц города Минска во временном аспекте / В. В. Сахвон, М. Е. Никифоров // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 412–425. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-412-425>

Vital V. Sakhvon¹, Michail E. Nikiforov²

¹*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

²*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Republic of Belarus*

FEATURES OF FORMATION BIRD POPULATION STRUCTURE IN MINSK IN THE TIME ASPECT

Abstract. The structure of bird population of urbanized areas is determined by the diversity of habitats within the city, the diversity of bird species in suburban biotopes, and regional processes of dispersal of birds closely associated with human settlements. The analysis of the dynamics of the breeding bird species richness in Minsk showed that its formation progressed in different ways. All in all, since 1946, 141 bird species have been recorded nesting (including allegedly) in the territory of Minsk.

The breeding bird assemblages is dominated by dendrophilous (45.0 % of all species) as well as wetland and semi-aquatic (29,3 %) bird species, with more than half of all the breeding bird species (50.3 %) associated with trees and shrubs. In different periods, the breeding bird species richness varied, by now, it has noticeably increased (from 77 to 132 species). This happened due to the expansion of the administrative boundaries of the city with the inclusion of bird species of suburban habitats, an increase in the diversity of habitats suitable for bird nesting (for example, the formation of large water bodies) as well as due to active colonization of urban ecosystems by various bird species. At the same time, after 2000, 9 bird species stopped nesting and 17 bird species started nesting. Active processes of synurbization of some bird species on the European continent observed in recent decades have become the reason for the addition of new species to the avifauna in Minsk, although the basis of the current structure of bird population was formed back in 1986–1999. At the same time, the synurbized groups of various bird species may be of autochthonous, allochthonous, or mixed origin.

Keywords: urban bird population, bird species diversity, synurbization, urban ornithology, urban ecosystem, Minsk

For citation: Sakhvon V. V., Nikiforov M. E. Features of formation bird population structure in Minsk in the time aspect. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 412–425 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-412-425>

Введение. Урбанизированные территории включают в себя целый комплекс разнообразных местообитаний, пригодных для сохранения и поддержания биологического разнообразия, в том числе и птиц [1]. Несмотря на негативную роль урбанизации для большинства видов птиц природных типов местообитаний, некоторые из них не только увеличились в численности за счет урболандшафтов, но и смогли значительно расширить свои ареалы. В новых для себя условиях они нашли обилие и доступность в течение всего года пищевых ресурсов, большое количество подходящих мест для гнездования и различного рода укрытий, а также смогли минимизировать пресс со стороны естественных хищников [2]. К настоящему времени пятая часть всех видов мировой орнитофауны встречается в городах [3]. Следует, однако, отметить, что это обусловлено в том числе и изменившимися подходами к формированию самой городской среды, экологичности которой отводится не последняя роль. При этом формирование структуры населения птиц на урбанизированных территориях может идти различными путями [4], что определяется главным образом двумя факторами: пространственной структурой города (многообразием представленных в пределах его административных границ биотопов) и видовым разнообразием нативной орнитофауны окружающих город ландшафтов [5–7].

В урбозкосистемах Беларуси зарегистрировано пребывание 205 видов птиц (60,8 % всей орнитофауны в Беларуси), относящихся к 16 отрядам (84,2 % всех отрядов) и 41 семейству (80,4 % всех семейств), из которых 141 вид (68,7 % всех зарегистрированных) является гнездящимся или предположительно гнездящимся [8]. Таким образом, видовое богатство птиц городов остается высоким по отношению к региональной орнитофауне, хотя следует иметь в виду, что многие из отмеченных видов известны по единичным случайным регистрациям [7]. На фоне ряда исследований экологической структуры и динамики видового разнообразия городских птиц [8–10] очень мало убедительно аргументированных сведений о путях формирования населения птиц на урбанизированных территориях, в особенности синурбизированных видов, которые играют значимую роль в урбозкосистемах.

Цель данной работы – с помощью ретроспективного анализа проследить динамику населения птиц г. Минска начиная с середины прошлого столетия и оценить изменения его видовой структуры во временном аспекте в условиях расширения и нарастания урбанизации городской территории. Следует отметить, что в отечественной литературе рассматривались некоторые вопросы, связанные с особенностями организации структуры населения и видового богатства птиц в городах. Так, П. Н. Янков и Б. В. Яминский [11], основываясь на сравнительном анализе орнитофаун в Минске и Софии, показали, что наблюдаемые различия связаны с географическим положением городов, а также с разнообразием сложившихся в них биотопических условий. При этом отмечалось, что постоянное изменение комплекса биотопов в Минске, связанное с расширением городских границ, обуславливало увеличение разнообразия населения птиц [12]. На тот период зоогеографический анализ орнитофауны на территории Минска отражал ее специфику и в некотором смысле давал представление о ее происхождении [11], однако у многих видов птиц тенденция к синурбизации тогда была гораздо менее выражена, чем в настоящее время. К тому же с тех пор Минск претерпел заметные преобразования как в размерах и биотопической структуре занимаемой территории, так и в численности городского населения, что связано с общемировой тенденцией к усилению урбанизации. Поэтому выяснение направленности динамики орнитофауны и факторов, определяющих ее на современном этапе, представляет не только практическую значимость с позиции сохранения биоразнообразия и управления им, но и фундаментальный интерес в плане оценки антропогенных факторов фауногенеза.

Объекты и методы исследования. В ходе мониторинговых исследований, проведенных на ряде площадок в черте города начиная с 2012 г., изучены пути формирования состава населения птиц в г. Минске. Динамика видового разнообразия и численности гнездящихся птиц изучалась с использованием их абсолютного количественного учета, что более подробно опи-

сано в соответствующих источниках [13, 14]. Гнездование вида считалось установленным при обнаружении гнезда или при регистрации птиц с гнездовым поведением (наблюдение слетков, птиц со строительным материалом или с кормом, птиц с беспокойным поведением в пределах определенного участка). Помимо этого, для отражения динамики состава птиц использованы данные, содержащиеся в литературных источниках и касающиеся изучаемой территории [11, 12, 15–18], а также персональные сообщения коллег (В. В. Гричик, И. Э. Самусенко, И. А. Богданович).

Результаты и их обсуждение. *Динамика видового состава птиц.* Основываясь на сведениях о характере роста урбанизации, динамике демографических данных и архитектурно-пространственной структуре Минска, нами выделен ряд этапов развития структуры населения птиц, соответствующих условно принятым четырем периодам развития города, начиная с послевоенного времени: 1945–1965 гг. (I период), 1966–1985 гг. (II период), 1986–1999 гг. (III период) и 2000 г. – настоящее время (IV период). Первый период характеризуется развитием среднеэтажной (4–5 этажей) застройки (по сравнению с 1940 г. возрастание более чем в 5 раз) в центральной части Минска и соединением ее с прилегающими жилыми территориями на юго-западе, а также возникновением жилых кварталов в северной, западной и южной частях города. Бурное развитие урбанизации в Беларуси в последующий период начиная с середины 1960-х годов привело к заметному расширению площади Минска, уплотнению городской застройки и увеличению его населения [19]. Так, площадь города, как и численность населения, выросла практически в 3 раза. Все это сопровождалось сокращением доли малотрансформированных естественных участков, в частности заболоченных земель, уже включенных в городскую черту. Вместе с тем за это время было сооружено большое количество искусственных водоемов [20]. В период со второй половины 1980-х по конец 1990-х годов численность городского населения практически не изменилась, а урбанизация существенно замедлилась. С 2000-х годов благодаря увеличению объемов и площади строительства, благоустройству территорий темпы урбанизации снова возросли, заметно расширились административные границы города, в том числе за счет присоединения пригородных населенных пунктов, что к настоящему времени по сравнению с 1980-ми годами привело к увеличению площади Минска в 2,9 раза (сейчас 34 884 га) [20].

Исходя из данных литературных источников, нами были составлены списки видов птиц Минска в соответствии с вышеуказанными периодами развития города (табл. 1). Начиная с 1946 г. на территории Минска установлено или с высокой вероятностью предполагается гнездование 141 вида птиц, относящихся к 16 отрядам и 43 семействам, что составляет 60,0 % всей современной гнездовой орнитофауны в Беларуси. При этом следует отметить, что более-менее постоянными элементами городского орнитонаселения в гнездовой сезон сейчас является 91 вид (в табл. 1 они обозначены как ОБ, РД и МЛ), тогда как остальные известны по нерегулярным и даже единичным регистрациям либо их гнездование не доказано, хотя и вероятно (в табл. 1 они обозначены как ЕД и ЕД?). Количество гнездящихся видов птиц в условиях Минска несколько больше, чем в Бресте, Витебске и особенно в Гомеле [8]. Это связано не только с заметно большей площадью Минска, а следовательно, и с большим разнообразием местообитаний в сравнении с остальными белорусскими городами, но и с ранее выявленными географическими особенностями в формировании орнитофауны на городских территориях, что было показано в ряде работ [6, 8]. В частности, было установлено, что максимальное видовое богатство гнездящихся птиц отмечается в городах Центральной и Восточной Европы, в том числе и в Минске, тогда как юго-восточнее Минска оно заметно снижается и достигает минимума у восточноевропейских границ, в Саратове и Оренбурге [8].

Сравнение количества гнездящихся видов птиц в условиях Минска по рассматриваемым временным периодам показывает в целом постепенное возрастание их видового богатства (табл. 1). Так, если в 1946–1965 гг. в качестве гнездящихся было отмечено 77 видов, то в начале 2020-х годов их насчитывалось уже 132. При этом имело место и противоположное явление – исчезновение некоторых ранее гнездившихся видов.

Таблица 1. Динамика видового богатства и экологическая структура гнездящихся птиц Минска

Table 1. Dynamics of species richness and ecological structure of breeding birds in Minsk

Видовое название	Статус					Экологическая группа	
	1946–1965 гг.	1966–1985 гг.	1986–1999 гг.	2000 г. – наст. время	современный	по сходству местообитаний	по предпочитаемому месторасположению гнезд
Поганка малая (<i>Tachybaptus ruficollis</i>)	+	+	+	+	РД	ВБ	ПВ
Поганка большая (<i>Podiceps cristatus</i>)	–	–	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Поганка красношейная (<i>Podiceps auritus</i>)	–	–	?	–	–	ВБ	ПВ
Поганка черношейная (<i>Podiceps nigricollis</i>)	–	–	–	+	ЕД	ВБ	ПВ
Выпь большая (<i>Botaurus stellaris</i>)	–	–	+	+	ЕД?	ВБ	ПВ
Выпь малая (<i>Ixobrychus minutus</i>)	+	+	+	+	ЕД	ВБ	ПВ
Аист белый (<i>Ciconia ciconia</i>)	–	–	–	+	ЕД	СЕ	РМ
Лебедь-шипун (<i>Cygnus olor</i>)	–	–	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Кряква (<i>Anas platyrhynchos</i>)	+	+	+	+	ОБ	ВБ	НГ
Чирок-трескунок (<i>Spatula querquedula</i>)	–	+	+	+	ЕД	ВБ	НГ
Широконоска (<i>Spatula clypeata</i>)	–	–	+	–	–	ВБ	НГ
Чернеть красноголовая (<i>Aythya ferina</i>)	–	–	+	+	ЕД?	ВБ	ПВ
Чернеть хохлатая (<i>Aythya fuligula</i>)	–	–	+	+	ЕД?	ВБ	ПВ
Лунь болотный (<i>Circus aeruginosus</i>)	–	–	+	+	ЕД	ВБ	ПВ
Тетеревятник (<i>Accipiter gentilis</i>)	–	–	+	+	РД	ДЕ	КР
Перепелятник (<i>Accipiter nisus</i>)	–	+	+	+	РД	ДЕ	КР
Канюк (<i>Buteo buteo</i>)	–	–	–	+	ЕД?	ДЕ	КР
Осоед обыкновенный (<i>Pernis apivorus</i>)	–	–	–	+	ЕД?	ДЕ	КР
Пустельга обыкновенная (<i>Falco tinnunculus</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Чеглок (<i>Falco subbuteo</i>)	–	–	–	+	ЕД	ДЕ	КР
Куропатка серая (<i>Perdix perdix</i>)	+	+	+	+	МЛ	ОП	НГ
Перепел (<i>Coturnix coturnix</i>)	–	–	+	–	–	ОП	НГ
Коростель (<i>Crex crex</i>)	–	+	+	+	РД	ОП	НГ
Лысуха (<i>Fulica atra</i>)	–	+	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Камышница (<i>Gallinula chloropus</i>)	+	+	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Пастушок (<i>Rallus aquaticus</i>)	–	–	+	+	РД	ВБ	ПВ
Погоныш (<i>Porzana porzana</i>)	–	–	+	+	ЕД	ВБ	ПВ
Погоныш малый (<i>Porzana parva</i>)	–	–	+	+	ЕД	ВБ	ПВ
Зуек малый (<i>Charadrius dubius</i>)	–	+	+	+	РД	ОП	НГ
Чибис (<i>Vanellus vanellus</i>)	В	+	+	+	РД	ОП	НГ
Перевозчик (<i>Actitis hypoleucos</i>)	В	+	+	+	РД	ВБ	НГ
Веретенник большой (<i>Limosa limosa</i>)	–	–	+	+	ЕД?	ВБ	НГ
Вальдшнеп (<i>Scolopax rusticola</i>)	–	–	–	?	ЕД?	ДЕ	НГ
Травник (<i>Tringa totanus</i>)	–	–	+	+	ЕД	ВБ	НГ
Черныш (<i>Tringa ochropus</i>)	В	+	–	–	–	ВБ	РМ
Поручейник (<i>Tringa stagnatilis</i>)	–	–	+	–	–	ВБ	НГ
Чайка озерная (<i>Chroicocephalus ridibundus</i>)	–	+	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Чайка сизая (<i>Larus canus</i>)	–	–	+	+	МЛ	ВБ	ЗД
Чайка серебристая (<i>Larus argentatus</i>)	–	–	+	+	ОБ	ВБ	ЗД
Хохотунья (<i>Larus cachinnans</i>)	–	–	+	+	ОБ	ВБ	ЗД
Чайка черноголовая (<i>Larus melanoccephalus</i>)	–	–	–	+	ЕД	ВБ	ЗД
Клуша (<i>Larus fuscus</i>)	–	–	–	+	ЕД	ВБ	ЗД
Крчка речная (<i>Sterna hirundo</i>)	–	–	+	+	ОБ	ВБ	РМ
Крчка черная (<i>Chlidonias niger</i>)	В	+	+	+	РД	ВБ	ПВ
Голубь сизый (<i>Columba livia</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	ЗД

Продолжение табл. 1

Видовое название	Статус					Экологическая группа	
	1946–1965 гг.	1966–1985 гг.	1986–1999 гг.	2000 г. – наст. время	современный	по сходству местообитаний	по предпочитаемому месторасположению гнезд
Вяхрь (<i>Columba palumbus</i>)	–	+	+	+	ОБ	ДЕ	КП
Горлица кольчатая (<i>Streptopelia decaocto</i>)	+	+	+	+	ЕД	СЕ	РМ
Кукушка обыкновенная (<i>Cuculus canorus</i>)	В	+	+	?	ЕД?	–	РМ
Неясыть серая (<i>Strix aluco</i>)	В	–	?	+	ЕД	ДЕ	ДГ
Сова ушастая (<i>Asio otus</i>)	В	+	+	+	ОБ	ОП	КР
Сыч воробьиный (<i>Glaucidium passerinum</i>)	–	–	–	+	ЕД	ДЕ	ДГ
Сыч домовый (<i>Athene noctua</i>)	В	+	+	?	ЕД?	СЕ	ЗД
Стриж черный (<i>Apus apus</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Козодой обыкновенный (<i>Caprimulgus europaeus</i>)	–	+	–	–	–	ДЕ	НГ
Зимородок обыкновенный (<i>Alcedo atthis</i>)	В	?	+	+	ЕД	ВБ	НО
Вертишейка (<i>Jynx torquilla</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	ДГ
Желна (<i>Dryocopus martius</i>)	–	–	+	+	ЕД	ДЕ	ДГ
Дятел большой пестрый (<i>Dendrocopos major</i>)	В	+	+	+	ОБ	ДЕ	ДГ
Дятел средний пестрый (<i>Dendrocopos medius</i>)	–	–	–	+	ЕД	ДЕ	ДГ
Дятел малый пестрый (<i>Dendrocopos minor</i>)	–	–	+	+	ЕД	ДЕ	ДГ
Жаворонок хохлатый (<i>Galerida cristata</i>)	+	+	+	+	РД	СЕ	НГ
Жаворонок полевой (<i>Alauda arvensis</i>)	+	+	+	+	МЛ	ОП	НГ
Ласточка деревенская (<i>Hirundo rustica</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	ЗД
Ласточка городская (<i>Delichon urbica</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	ЗД
Ласточка береговая (<i>Riparia riparia</i>)	+	+	+	+	РД	ВБ	НО
Трясогузка белая (<i>Motacilla alba</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Трясогузка желтая (<i>Motacilla flava</i>)	–	+	+	+	МЛ	ОП	НГ
Конек луговой (<i>Anthus pratensis</i>)	–	–	+	+	РД	ОП	НГ
Конек лесной (<i>Anthus trivialis</i>)	В	+	–	–	–	ДЕ	НГ
Конек полевой (<i>Anthus campestris</i>)	–	–	–	+	ЕД	ОП	НГ
Крапивник (<i>Troglodytes troglodytes</i>)	+	?	+	+	МЛ	ДЕ	ПП
Завирушка лесная (<i>Prunella modularis</i>)	–	–	+	+	РД	ДЕ	РМ
Зарянка (<i>Erithacus rubecula</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	РМ
Варакушка (<i>Luscinia svecica</i>)	–	–	+	+	ЕД	ВБ	НГ
Соловей обыкновенный (<i>Luscinia luscinia</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	НГ
Горихвостка-чернушка (<i>Phoenicurus ochruros</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	ЗД
Горихвостка обыкновенная (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	РМ
Чекан луговой (<i>Saxicola rubetra</i>)	+	+	+	+	МЛ	ОП	НГ
Каменка обыкновенная (<i>Oenanthe oenanthe</i>)	+	+	+	+	МЛ	СЕ	ЗД
Мухоловка малая (<i>Ficedula parva</i>)	–	+	+	+	РД	ДЕ	ДГ
Мухоловка серая (<i>Muscicapa striata</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	РМ
Мухоловка-белошейка (<i>Ficedula albicollis</i>)	–	–	–	+	ЕД	ДЕ	ДГ

Продолжение табл. 1

Видовое название	Статус					Экологическая группа	
	1946–1965 гг.	1966–1985 гг.	1986–1999 гг.	2000 г. – наст. время	современный	по сходству местообитаний	по предпочитаемому месторасположению гнезд
Мухоловка-пеструшка (<i>Ficedula hypoleuca</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ДГ
Дрозд черный (<i>Turdus merula</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Дрозд певчий (<i>Turdus philomelos</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Рябинник (<i>Turdus pilaris</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	КП
Деряба (<i>Turdus viscivorus</i>)	–	–	–	+	ЕД	ДЕ	КП
Белобровик (<i>Turdus iliacus</i>)	–	–	+	+	ЕД	ДЕ	ПП
Сверчок обыкновенный (<i>Locustella naevia</i>)	–	–	+	–	–	ВБ	НГ
Сверчок речной (<i>Locustella fluviatilis</i>)	+	+	+	+	РД	ДЕ	НГ
Сверчок соловьиный (<i>Locustella luscinioides</i>)	–	–	+	?	ЕД?	ВБ	НГ
Камышевка болотная (<i>Acrocephalus palustris</i>)	+	+	+	+	ОБ	ОП	ПП
Камышевка дроздовидная (<i>Acrocephalus arundinaceus</i>)	+	+	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Камышевка-барсучок (<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>)	+	+	+	+	ОБ	ВБ	ПВ
Камышевка садовая (<i>Acrocephalus dumetorum</i>)	–	+	+	+	РД	ОП	ПП
Бормотушка северная (<i>Iduna caligata</i>)	–	–	–	+	ЕД	ОП	ПП
Пересмешка зеленая (<i>Hippolais icterina</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Пеночка зеленая (<i>Phylloscopus trochiloides</i>)	–	–	+	+	РД	ДЕ	НГ
Пеночка-теньковка (<i>Phylloscopus collybita</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	НГ
Пеночка-весничка (<i>Phylloscopus trochilus</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	НГ
Пеночка-трещотка (<i>Phylloscopus sibilatrix</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	НГ
Королек желтоголовый (<i>Regulus regulus</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	КР
Королек красноголовый (<i>Regulus ignicapilla</i>)	–	–	–	+	МЛ	ДЕ	КР
Славка серая (<i>Sylvia communis</i>)	+	+	+	+	МЛ	ОП	ПП
Славка черноголовая (<i>Sylvia atricapilla</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Славка садовая (<i>Sylvia borin</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	ПП
Славка-завирушка (<i>Sylvia curruca</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Ополовник (<i>Aegithalos caudatus</i>)	–	+	+	+	ЕД	ДЕ	КП
Гаичка черноголовая (<i>Parus palustris</i>)	+	+	+	+	РД	ДЕ	ДГ
Гаичка буроголовая (<i>Parus montanus</i>)	–	–	+	+	РД	ДЕ	РМ
Синица большая (<i>Parus major</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	РМ
Лазоревка обыкновенная (<i>Cyanistes caeruleus</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	РМ
Московка (<i>Periparus ater</i>)	–	–	+	+	ОБ	ДЕ	ДГ
Синица хохлатая (<i>Lophophanes cristatus</i>)	В	+	+	+	РД	ДЕ	ДГ
Ремез (<i>Remiz pendulinus</i>)	–	–	+	+	ЕД	ВБ	ПВ
Поползень обыкновенный (<i>Sitta europaea</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	ДГ

Окончание табл. 1

Видовое название	Статус					Экологическая группа	
	1946–1965 гг.	1966–1985 гг.	1986–1999 гг.	2000 г. – наст. время	современный	по сходству местообитаний	по предпочитаемому месторасположению гнезд
Пищуха обыкновенная (<i>Certhia familiaris</i>)	+	+	+	+	РД	ДЕ	ПП
Жулан обыкновенный (<i>Lanius collurio</i>)	В	+	+	+	РД	ДЕ	ПП
Иволга обыкновенная (<i>Oriolus oriolus</i>)	В	+	+	+	ЕД	ДЕ	КП
Сойка обыкновенная (<i>Garrulus glandarius</i>)	В	+	+	+	МЛ	ДЕ	РМ
Сорока (<i>Pica pica</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Галка (<i>Corvus monedula</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Грач (<i>Corvus frugilegus</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	КР
Ворона серая (<i>Corvus cornix</i>)	–	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Ворон (<i>Corvus corax</i>)	–	–	–	+	ЕД	ДЕ	РМ
Скворец обыкновенный (<i>Sturnus vulgaris</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	РМ
Воробей домовый (<i>Passer domesticus</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Воробей полевой (<i>Passer montanus</i>)	+	+	+	+	ОБ	СЕ	РМ
Зяблик (<i>Fringilla coelebs</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Вьюрок канареечный (<i>Serinus serinus</i>)	+	+	+	+	МЛ	СЕ	ПП
Зеленушка обыкновенная (<i>Chloris chloris</i>)	+	+	+	+	ОБ	ДЕ	ПП
Щегол черноголовый (<i>Carduelis carduelis</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	ПП
Чиж (<i>Spinus spinus</i>)	–	+	?	?	ЕД?	ДЕ	КР
Клест-еловик (<i>Loxia curvirostra</i>)	–	–	–	+	ЕД?	ДЕ	КР
Коноплянка (<i>Linaria cannabina</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	ПП
Снегирь обыкновенный (<i>Pyrrhula pyrrhula</i>)	–	–	?	+	РД	ДЕ	ПП
Дубонос обыкновенный (<i>Coccothraustes coccothraustes</i>)	+	+	+	+	МЛ	ДЕ	КП
Чечевича обыкновенная (<i>Carpodacus erythrinus</i>)	+	+	+	+	ЕД	ВБ	ПП
Овсянка обыкновенная (<i>Emberiza citrinella</i>)	+	+	+	+	РД	ОП	НГ
Овсянка тростниковая (<i>Emberiza schoeniclus</i>)	+	+	+	+	МЛ	ВБ	НГ
Овсянка садовая (<i>Emberiza hortulana</i>)	?	+	–	–	–	ОП	НГ
Всего видов	77 [15, 21]	90 [11, 12, 16]	120 [17, 18]	132 [22–24], сд			

Примечание. + – гнездящийся вид, «–» – не гнездящийся вид, ? – гнездование вида предполагается, В – вероятное гнездование вида на основании сведений из литературы [15, 21], полужирным выделены виды, гнездящиеся/предположительно гнездящиеся во все временные периоды, начиная с 1966 г.; сд – собственные данные. Статус видов: ОБ – обычный (встречается, как правило, во всех подходящих местообитаниях); МЛ – малочисленный (встречается регулярно, но не повсеместно, главным образом в типичных местообитаниях); РД – редкий (встречается ежегодно, но распространен крайне неравномерно); ЕД – известен по очень редким встречам, общая численность в черте города не превышает 10 пар; ЕД? – известен по единичным и нерегулярным регистрациям либо гнездование предполагается. Экологические группы видов: по типу местообитаний (ВБ – водно-болотная и околородная, ДЕ – древесно-кустарниковая (дендрофильная), ОП – открытых пространств, СЕ – селитебных ландшафтов); по месту расположения гнезда (ПВ – гнездящиеся на/у поверхности воды, НГ – наземногнездящиеся, КР – гнездящиеся в кронах деревьев, КП – гнездящиеся в кронах деревьев, подросте и подлеске, ПП – гнездящиеся в подросте и подлеске, ДГ – дуплогнездящиеся, НО – норники, ЗД – гнездящиеся на/в зданиях, РМ – гнездящиеся в разнообразных местах (политопы)).

О составе населения птиц Минска в период до начала целенаправленных орнитофаунистических исследований урбанизированных местообитаний можно судить лишь по неполной, отрывочной информации из литературы, в связи с чем некоторые виды мы приводим в качестве гнездящихся, основываясь на косвенных данных (в графе 1946–1965 гг. табл. 1 обозначены как В). Поэтому в дальнейшем сравнительном анализе исторической динамики видового состава птиц мы опираемся главным образом лишь на данные конца 1960-х годов (период начала системных исследований орнитофауны в Минске). Как оказалось, из полного списка гнездящихся птиц Минска лишь 84 вида известны как гнездящиеся/предположительно гнездящиеся во все временные периоды после 1965 г. (в табл. 1 выделены полужирным). В абсолютном большинстве это самые обычные и широко распространенные в республике виды, которые характеризуются высокой пластичностью в выборе местообитаний, а также мест для гнездования. Именно эти виды составляют ядро орнитонаселения Минска.

С середины 1980-х годов 50 новых видов птиц были отмечены на гнездовании в пределах административных границ города, причем 17 из них – в последний период (уже в XXI в.). Некоторые из них к настоящему времени не только стали постоянными обитателями урбоэкосистемы, но и проявляют тенденцию к постепенному увеличению своей численности, как, например, красноголовый королек (*Regulus ignicapilla*) и мухоловка-белошейка (*Ficedula albicollis*), появившиеся на гнездовании на территории Минска лишь с середины 2010-х годов, а также северная бормотушка (*Iduna caligata*), первый случай гнездования которой приходится на 2017 г. [23]. Возможно, к видам с выраженной положительной динамикой численности можно отнести и ворона (*Corvus corax*), о гнездовании которого в пределах административных городских границ тоже стало известно лишь недавно. Несмотря на то что установленные в последнее десятилетие случаи гнездования клуши (*Larus fuscus*), черноголовой чайки (*Larus melanocephalus*) и среднего пестрого дятла (*Dendrocopos medius*) пока единичные, численность этих видов в будущем, по всей видимости, также может несколько возрасти, но вряд ли достигнет существенных показателей.

Что касается противоположно направленного процесса исчезновения видов из состава гнездящихся в пределах города, то из ранее отмечаемых на территории Минска после 2000 г. перестали встречаться на гнездовании 9 видов, среди них: красношейная поганка (*Podiceps auritus*), широконоска (*Spatula clypeata*), перепел (*Coturnix coturnix*), поручейник (*Tringa stagnatilis*), черныш (*Tringa ochropus*), обыкновенный козодой (*Caprimulgus europaeus*), лесной конек (*Anthus trivialis*), обыкновенный сверчок (*Locustella naevia*) и садовая овсянка (*Emberiza hortulana*). Большинство из этих видов, вероятнее всего, и ранее оказывались случайными обитателями городской территории, поскольку они предъявляют специфические требования к местам гнездования, а следовательно, их благополучное существование в современной урбосреде маловероятно. Этим птиц можно назвать также временными обитателями городской территории Минска, так как они попали в состав гнездящихся здесь видов урболандшафта при включении в границы города новых участков с естественными местообитаниями. Однако вследствие увеличения антропогенной трансформации этих территорий и проявления последствий нарастающей урбанизации их популяционные группировки достаточно быстро деградируют и исчезают. В качестве примеров еще встречаемых, но находящихся на грани исчезновения видов можно привести вальдшнепа (*Scolopax rusticola*), обыкновенную кукушку (*Cuculus canorus*) и, возможно, домового сыча (*Athene noctua*). По не до конца понятным причинам к настоящему времени, по всей видимости, также прекратила гнездиться в Минске кольчатая горлица (*Streptopelia decaocto*) – характерный для населенных пунктов вид, который ранее регулярно встречался в соответствующих биотопах.

Экологическая структура орнитонаселения. Городские территории включают в себя ряд самых разнообразных местообитаний, благоприятных для гнездования птиц разных экологических групп, поэтому играют важную роль в поддержании и сохранении видового разнообразия птиц [25]. Анализ соотношения различных экологических групп птиц, выделенных на основе сходства их местообитаний, показал, что основу гнездового орнитонаселения в Минске составляют древесно-кустарниковые (дендрофильные) (45,0 %), водно-болотные и околотовные (29,3 %) виды птиц (табл. 1), что обусловлено широким распространением соответствующих биотопов в урбосреде Минска и доминирующим положением видов данных экологических групп в регионе [8].

По предпочитаемому месту расположения гнезда выделяется 9 экологических групп (табл. 1). При этом из всего числа видов городской среды преобладают гнездящиеся открыто на земле (23,4 %), несколько уступают им виды-политопы с широким разнообразием мест расположения гнезда (14,9 %) и устраивающие гнезда преимущественно в подросте и подлеске (14,9 %), а также на/у поверхности воды (13,5 %). Преобладание в количественном выражении наземногнездящихся видов выглядит несколько парадоксальным, учитывая ту высокую антропогенную нагрузку, которая свойственна городским территориям, и наибольшую уязвимость в урбосреде именно располагающихся на земле гнезд. Однако это объясняется тем, что лишь 5 (15,1 %) из 33 видов этой группы являются обычными в условиях Минска, а 14 видов известны по единичным регистрациям гнездования или к настоящему времени уже перестали гнездиться вовсе (табл. 1). Поэтому наземногнездящиеся виды наряду с норниками, по сути, обречены стать самой малочисленной экологической группой птиц в орнитонаселении Минска. В целом же в границах города 50,3 % видов птиц (с учетом видов-политопов) предпочитает гнездиться в местах с древесно-кустарниковой растительностью, что обусловлено в том числе и доминированием этой экологической группы в орнитофауне на территории Беларуси.

На динамике как видового состава, так и экологической структуры гнездового орнитонаселения в разрезе рассматриваемых временных периодов безусловно сказалась биотопическая трансформация городской среды и изменение соотношения площадей различных типов местообитаний, в том числе и вследствие расширения границ города. Показательным тому пример – заметное возрастание начиная с середины 1980-х годов в видовом перечне птиц доли водно-болотных и околородных видов, что связано с появлением и расширением площадей, занятых крупными водоемами на территории Минска.

Пути формирования орнитонаселения Минска. В настоящее время существует несколько гипотез о причинах, механизмах и источниках формирования орнитонаселения урбанизированных территорий различных регионов [4]. При определенном сходстве основных тенденций и закономерностей различные города и агломерации имеют свою специфику и отличия. Анализ полученных данных показывает, что формирование видового богатства птиц на территории Минска идет несколькими путями.

Прежде всего необходимо отметить, что зачастую состав населения птиц отдельных местообитаний в черте города во многом идентичен их составу в аналогичных местообитаниях на прилегающих пригородных природных территориях. Особенно если учесть, что нередко они оказываются частями одного и того же единого массива – лесного, водного или полевого, условно подразделяемых на городскую и пригородную части. Поэтому можно считать, что значительная часть орнитонаселения города сформировалась вследствие расширения административных городских границ и прямого поглощения природных территорий с локализованными на них местообитаниями и присущим им видовым богатством птиц (инклюзивные виды). И именно эта часть характеризует региональное своеобразие и ландшафтную специфику населения птиц конкретного населенного пункта, так как формируется в условиях местного ландшафтного и биотопического разнообразия – (так называемый пассивный путь формирования орнитонаселения урбоэкосистем). Этим можно объяснить тот факт, что, несмотря на усиление урбанизации и постоянную застройку территории Минска, на гнездовании здесь встречаются отдельные виды птиц, весьма чувствительные к антропогенным нагрузкам (различные виды пеночек (*Phylloscopus*), славков (*Sylvia*), сверчков (*Locustella*) и др.). Однако при дальнейшей трансформации включенных в состав городских территорий участков или возрастании негативных факторов популяционные группировки таких видов деградируют и вид исчезает из состава орнитонаселения, что и показывает анализ списков населения птиц во временном аспекте (табл. 1).

Все остальные пути формирования орнитонаселения на городских территориях являются по своей сути активными. Один из таких основных путей формирования (а в большей степени – поддержания) видового разнообразия птиц городских местообитаний – иммиграция из прилегающих территорий. Дело в том, что при всей привлекательности условий, сложившихся в урбосреде, действие некоторых элиминирующих факторов, негативно влияющих на успешное размножение птиц, оказывается значительным, что ведет к недостатку естественного воспроизводства

популяционных группировок, а впоследствии – к незаполненности экологических ниш в урбо-экосистемах. Это и создает условия для регулярного притока особей извне, где в природных ландшафтах может образовываться популяционный резерв, приводящий к усилению конкурентных внутривидовых взаимодействий (в первую очередь за места для гнездования) и вынуждающий избыточное количество птиц смещаться в менее благоприятные местообитания, в том числе в пределах границ городов. Вселению на урбанизированные территории может способствовать и наличие в городской черте экологически емких биотопов, приближенных по своей структуре к естественным и благоприятным для гнездования птиц, несмотря на повышенную антропогенную нагрузку. Типичным примером таких местообитаний могут выступать зеленые древесные насаждения, занимающие значительные площади, к примеру парки [13]. В период весенней миграции, когда происходит возвращение с мест зимовок и занятие гнездовых участков птицами, этим территориям может быть отдано предпочтение, чем объясняется зачастую наличие здесь даже редких и малочисленных видов птиц, нетипичных для городов. Однако иногда такие биотопы могут представлять собой своеобразные экологические «ловушки» для птиц, поскольку самцы, обозначив гнездовой участок, впоследствии не находят себе партнера в данных условиях и пропускают гнездовой сезон. В частности, на территории памятника природы республиканского значения «Дубрава» и Центрального ботанического сада НАН Беларуси в ранневесенний период регистрируется ряд видов птиц, которые держатся здесь некоторое время либо даже на протяжении всего весенне-летнего периода, но не приступают к размножению. К таким видам относятся обыкновенный сверчок (*Locustella naevia*), малая мухоловка (*Ficedula parva*), зеленая пеночка (*Phylloscopus trochiloides*). Периодически эти новые виды птиц могут гнездиться на городских территориях, и есть все основания предполагать, что в будущем некоторые из них смогут успешно закрепиться в городе после ряда нереализованных попыток (как, например, недавно это произошло со средним пестрым дятлом) [14].

Еще одна часть населения птиц урболандшафта формируется из видов-синурбистов, которые в силу своих экологических или биологических особенностей имеют популяционные преимущества от поселения именно в урбанизированных местообитаниях. При этом внедрение птиц на конкретные урбанизированные территории может происходить как в результате расселения особей из городских (синурбизированных) популяций вида, сформированных в других географических регионах (аллохтонное происхождение), так и за счет адаптирующихся к городской среде местных птиц (автохтонное происхождение) (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Вероятное происхождение синурбизированных группировок отдельных видов птиц в условиях Минска

Table 2. Probable origin of synurbized groups of some bird species in Minsk

Происхождение	Видовое название	Всего видов
Автохтонное	<i>Anas platyrhynchos</i> , <i>Accipiter gentilis</i> , <i>Accipiter nisus</i> , <i>Falco tinnunculus?</i> , <i>Chroicocephalus ridibundus?</i> , <i>Sterna hirundo?</i> , <i>Asio otus</i> , <i>Apus apus?</i> , <i>Motacilla alba</i> , <i>Erithacus rubecula</i> , <i>Phoenicurus phoenicurus</i> , <i>Turdus philomelos</i> , <i>Turdus pilaris</i> , <i>Hippolais icterina</i> , <i>Sylvia atricapilla</i> , <i>Sylvia curruca</i> , <i>Muscicapa striata</i> , <i>Parus major</i> , <i>Cyanistes caeruleus</i> , <i>Garrulus glandarius</i> , <i>Pica pica</i> , <i>Corvus cornix</i> , <i>Sturnus vulgaris</i> , <i>Fringilla coelebs</i> , <i>Chloris chloris</i> , <i>Linaria cannabina</i> , <i>Carduelis carduelis</i> , <i>Coccothraustes coccothraustes</i>	28
Аллохтонное	<i>Larus canus</i> , <i>Larus argentatus</i> , <i>Larus cachinnans</i> , <i>Columba palumbus</i>	4
Смешанное	<i>Turdus merula</i>	1

На европейском континенте первичное формирование городских популяций ряда видов птиц происходило в городах Западной, Центральной и Северной Европы, откуда уже шло их распространение на остальные территории [4]. Из общего числа видов, группировкам которых на территории Минска свойственны признаки синурбизированных (всего 33 вида, или 23,4 %), лишь некоторые имеют аллохтонное происхождение, как, например, вяхирь (*Columba palumbus*) [26] и различные виды белоголовых чаек (*Larus*). По всей видимости, большинство гнездящихся в Минске видов птиц, которые проявляют тенденцию к освоению города или уже смогли успешно

сформировать здесь синурбизированные популяции, имеют автохтонное, т. е. местное (нативное) происхождение (табл. 2). В первую очередь это касается оседлых видов птиц, которые характеризуются небольшим радиусом natalной и гнездовой дисперсии и в большей степени склонны к формированию синурбизированных популяций в целом, как, например, большая синица (*Parus major*), обыкновенная лазоревка (*Cyanistes caeruleus*), сорока и серая ворона [27]. Автохтонное происхождение городских группировок свойственно и видам, которые экологически связаны с агроландшафтом (обыкновенная зеленушка (*Chloris chloris*), обыкновенный дубонос (*Coccothraustes coccothraustes*), черноголовый щегол (*Carduelis carduelis*) и коноплянка (*Linaria cannabina*)). Данные виды птиц также не совершают дальних сезонных перемещений, а кроме того, характеризуются смешанным питанием, что имеет важное преадаптивное значение для птиц, осваивающих урбоэкосистемы [28]. Наконец, в общем видовом разнообразии птиц города самую небольшую по числу видов группу составляют синантропы, популяции которых тесно связаны с жизнедеятельностью человека и вне населенных пунктов не встречаются. К настоящему времени 14 (10,1 %) видов птиц в условиях Минска являются синантропными (см. табл. 1). При этом следует отметить, что колонизация новых городских территорий у видов данной группы, в отличие от синурбистов, сопровождается расширением видовой ареала. Так, последними из синантропов территорию Минска освоили канареечный вьюрок (*Serinus serinus*) (1960 г.), горихвостка-чернушка (*Phoenicurus ochruros*) (1961 г.) и кольчатая горлица (*Streptopelia decaocto*) (1962 г.) [15].

Ретроспективное сравнение динамики орнитонаселения Минска показывает, что на разных этапах развития города пути формирования видовой разнообразия птиц различались. Заметное расширение площади Минска, произошедшее в 1960–1980-х годах, с включением обширных прилегающих территорий с участками естественных ландшафтов, а также формирование ряда крупных искусственных водоемов привело в последующем к увеличению видовой списка гнездящихся птиц на треть (табл. 1). В результате появился на гнездовании ряд новых водно-болотных и околородных видов птиц, большинство из которых остаются обычными гнездящимися вплоть до настоящего времени: малая поганка (*Tachybaptus ruficollis*), большая поганка (*Podiceps cristatus*), хохлатая (*Aythya fuligula*) и красноголовая (*Aythya ferina*) чернети, лысуха (*Fulica atra*), камышница (*Gallinula chloropus*), пастушок (*Rallus aquaticus*), а также погоньш (*Porzana porzana*). В этот же период началось освоение территории Минска серой вороной (*Corvus cornix*) [29] и сорокой (*Pica pica*) [30], которые к настоящему времени смогли сформировать здесь стабильные синурбизированные популяции.

По сути, именно в период с середины 1980-х до конца 1990-х годов был практически полностью сформирован современный облик орнитонаселения Минска, поскольку в последующем заметного увеличения видовой состава за счет регулярно гнездящихся видов птиц не произошло, а гнездование отдельных новых видов здесь было единичным и, по всей видимости, случайным, как, например, осоеда (*Pernis apivorus*) или дерябы (*Turdus viscivorus*). Тем не менее, с начала XXI в. количественные и качественные изменения в структуре городского орнитонаселения опять стали более заметны, но были обусловлены уже синурбизацией отдельных видов птиц, которая именно к этому времени приобрела наиболее выраженный характер. Так, в данный период на территории Минска установлено более-менее регулярное гнездование сразу 6 потенциальных видов-синурбистов (клуша, чайка черноголовая, средний пестрый дятел, красноголовый королек, мухоловка-белошейка, ворон), часть из которых до этого уже смогла освоить городские территории многих регионов европейского континента (см. табл. 1).

Заключение. Таким образом, за период с 1946 г. на территории Минска было зарегистрировано гнездование (в том числе предположительное) 141 вида птиц. В разные временные периоды видовой богатство гнездящихся птиц различалось и к настоящему времени по сравнению с серединой прошлого столетия оно заметно увеличилось. Это связано как с расширением административных границ города и включением видовой богатства птиц пригородных ландшафтов, так и с активным освоением урбоэкосистем самими птицами. Основную долю в орнитонаселении составляют виды, предпочитающие гнездиться в местах с древесно-кустарниковой растительностью. Структура видовой разнообразия птиц обусловлена, с одной стороны, видовым

богатством птиц в окружающих город естественных ландшафтах, с другой – является отражением региональных процессов расселения птиц, тесно связанных с населенными пунктами. Наблюдаемые в последние десятилетия активные процессы синурбизации некоторых видов птиц на европейском континенте стали причиной пополнения состава птиц Минска новыми видами в XXI в., хотя основа современного облика орнитонаселения была сформирована еще в 1986–1999 гг. При этом происхождение синурбизированных группировок различных видов птиц может иметь автохтонное, аллохтонное или смешанное происхождение, более достоверными критериями установления чего могут стать результаты массового мечения птиц или данные их молекулярно-генетических исследований.

Список использованных источников

1. Urban ecological systems: linking terrestrial ecological, physical and socioeconomic components of metropolitan areas / S. T. A. Pickett [et al.] // *Ann. Rev. Ecol. System.* – 2001. – Vol. 32. – P. 127–157. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114012>
2. Shochat, E. Credit or debit? Resource input changes population dynamics of city-slicker birds / E. Shochat // *Oikos.* – 2004. – Vol. 106, N 3. – P. 622–626. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.13159.x>
3. A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers / M. F. J. Aronson [et al.] // *Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci.* – 2014. – Vol. 281, N 1780. – P. 20133330. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.3330>
4. Tomiałojć, L. Human initiation of synurbic populations of waterfowl, raptors, pigeons and cage birds / L. Tomiałojć // *Ecology and conservation of birds in urban environments* / eds. E. Murgui, M. Hedblom. – Cham, 2017. – P. 271–286.
5. Tomiałojć, L. Quantitative studies on the synanthropic avifauna of Legnica and its environs / L. Tomiałojć // *Acta Ornithologica.* – 1970. – Vol. 12. – P. 293–392.
6. Are cities different? Patterns of species richness and beta diversity of urban bird communities and regional species assemblages in Europe / M. Ferenc [et al.] // *Global Ecol. Biogeogr.* – 2014. – Vol. 23, N 4. – P. 479–489. <https://doi.org/10.1111/geb.12130>
7. Сахвон, В. В. Динамика видового богатства гнездящихся птиц урбоэкосистем в долготном градиенте / В. В. Сахвон // *Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология.* – 2019. – № 4. – С. 29–35.
8. Сахвон, В. В. Видовое богатство и экологическая структура орнитофауны урбанизированных территорий в условиях Беларуси / В. В. Сахвон // *Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология.* – 2018. – № 1. – С. 95–102.
9. Демянчик, В. В. Синантропный экологический комплекс и структура населения позвоночных на селитебных территориях Белорусского Полесья / В. В. Демянчик, М. Е. Никифоров // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2017. – Т. 62, № 3. – С. 7–17.
10. Демянчик, В. В. Изменение синантропного населения наземных позвоночных животных селитебных территорий юго-запада Беларуси за столетний период / В. В. Демянчик, М. Е. Никифоров // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2018. – Т. 63, № 3. – С. 286–297.
11. Янков, П. Н. Сравнительная оценка южно- и средневропейского городов по признакам происхождения орнитофауны / П. Н. Янков, Б. В. Яминский // *Вес. Акад. навук БССР. Сер. біял. навук.* – 1981. – № 4. – С. 111–115.
12. Янков, П. Н. Некоторые проблемы изучения орнитофауны крупных городов / П. Н. Янков, Б. В. Яминский // *Вопросы экспериментальной зоологии* : сб. тр. 1-й науч. конф. молодых ученых Ин-та зоологии АН БССР, 25 дек. 1981 г. / редкол. : Л. М. Сушеня (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 1983. – С. 51–57.
13. Сахвон, В. В. Многолетняя динамика населения гнездящихся птиц на территории памятника природы республиканского значения «Дубрава» (Минск) / В. В. Сахвон, В. Ч. Домбровский // *Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология.* – 2018. – № 3. – С. 48–54.
14. Сахвон, В. В. Межгодовая динамика видового разнообразия птиц Центрального ботанического сада НАН Беларуси (Минск) / В. В. Сахвон, К. А. Федоринчик // *Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология.* – 2020. – № 2. – С. 66–74.
15. Федюшин, А. В. Птицы Белоруссии / А. В. Федюшин, М. С. Долбик. – Минск : Наука и техника, 1967. – 520 с.
16. Ульянова, В. В. Арнітафауна горада Мінска і асаблівасці яе біятапічнага размеркавання / В. В. Ульянова // *Вес. Акад. навук БССР. Сер. біял. навук.* – 1979. – № 4. – С. 110–114.
17. Шайкин, Р. В. Видовой состав и численность славковых птиц Лошицкого парка и Ботанического сада г. Минска / Р. В. Шайкин // *Структурно-функциональное состояние биологического разнообразия животного мира Беларуси* : тез. докл. VIII Зоол. науч. конф., Минск, 1999 г. / Ин-т зоологии НАН Беларуси ; редкол. : М. М. Пикулик (гл. ред.) [и др.] – Минск, 1999. – С. 144–145.
18. Юрко, В. В. Состав и структура населения птиц Минска / В. В. Юрко // *Антропогенная динамика ландшафтов и проблемы сохранения и устойчивого использования биологического разнообразия* : материалы Респ. науч.-практ. конф., Минск, 26–28 дек. 2001 г. / Белорус. гос. пед. ун-т им. М. Танка ; редкол. : А. В. Хандогий (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2002. – С. 198–200.
19. Красовский, К. К. Урбанизация в Беларуси: пространственно-временная динамика / К. К. Красовский // *Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География.* – 2002. – № 2. – С. 64–70.
20. Радчикова, Е. С. Исследование истории трансформации гидрографической сети урбанизированных территорий на примере г. Минска / Е. С. Радчикова // *Рус. журн. прикл. экологии.* – 2017. – № 1. – С. 44–49.

21. Долбик, М. С. Ландшафтная структура орнитофауны Белоруссии / М. С. Долбик. – Минск : Наука и техника, 1974. – 308 с.
22. Гомель, К. В. Экологическая структура водно-болотных птиц г. Минска / К. В. Гомель // Экологическая культура и охрана окружающей среды: II Дорифеевские чтения : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 29–30 нояб. 2016 г. / М-во образования Респ. Беларусь, Витеб. гос. ун-т им. П. М. Машерова, Витеб. обл. ком. природ. ресурсов и охраны окружающей среды ; редкол. : И. М. Прищепа (отв. ред.) [и др.]. – Витебск, 2016. – С. 186–187.
23. Гричик, В. В. Гнездование бормолушки *Iduna caligata* в городе Минске / В. В. Гричик // Рус. орнитолог. журн. – 2020. – Т. 29, № 2009. – С. 5820–5823.
24. Крупнейшая в Беларуси колония больших белоголовых чаек на крыше: основные результаты обследования 2018 года / И. Э. Самусенко [и др.] // Зоологические чтения : сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф. «Зоологические чтения – 2019», посвящ. 90-летию Гродн. зоол. парка (Гродно, 20–22 марта 2019 г.) / Гродн. гос. ун-т им. Я. Купалы ; редкол. : О. В. Янчуревич (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2019. – С. 246–250.
25. Donnelly, R. Importance of reserve size and landscape context to urban bird conservation / R. Donnelly, J. M. Marzluff // *Conserv. Biol.* – 2004. – Vol. 18, N 3. – P. 733–745. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00032.x>
26. Sakhvon, V. Distribution and habitat preferences of the urban Woodpigeon (*Columba palumbus*) in the north-eastern breeding range in Belarus / V. Sakhvon, L. Kövér // *Landscape Urban Plan.* – 2020. – Vol. 201. – P. 103846. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2020.103846>
27. Avifauna homogenisation by urbanisation: analysis at different European latitudes / P. Clergeau [et al.] // *Biol. Conservation.* – 2006. – Vol. 127, N 3. – P. 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.06.035>
28. Leveau, L. V. Bird traits in urban-rural gradients: how many functional groups are there? / L. V. Leveau // *J. Ornithol.* – 2013. – Vol. 154, N 3. – P. 655–662. <https://doi.org/10.1007/s10336-012-0928-x>
29. Сахвон, В. В. История формирования и особенности пространственного распределения синурбизированной популяции серой вороны (*Corvus cornix*) в г. Минске (Беларусь) / В. В. Сахвон // *Весн. Віцеб. дзярж. ун-та.* – 2018. – № 1 (98). – С. 26–30.
30. Сахвон, В. В. Плотность гнездования и особенности пространственного распределения сороки (*Pica pica*) в городе Минске / В. В. Сахвон // *Тр. Белорус. гос. ун-та. Сер.: Физиол., биохим. и молекуляр. основы функционирования биосистем.* – 2016. – Т. 11, № 2. – С. 286–290.

References

1. Pickett S. T. A., Cadenasso M. L., Grove J. M., Nilon C. H., Pouyat R. V., Zipperer W. C., Costanza R. Urban ecological systems: linking terrestrial ecological, physical and socioeconomic components of metropolitan areas. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2001, vol. 32, pp. 127–157. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114012>
2. Shochat E. Credit or debit? Resource input changes population dynamics of city-slicker birds. *Oikos*, 2004, vol. 106, no. 3, pp. 622–626. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.13159.x>
3. Aronson M. F. J., La Sorte F. A., Nilon C. H., Katti M., Goddard M. A., Lepczyk C. A. [et al.]. A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2014, vol. 281, no. 1780, p. 20133330. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.3330>.
4. Tomiałojć L. Human initiation of synurbic populations of waterfowl, raptors, pigeons and cage birds. *Ecology and conservation of birds in urban environments*. Cham, 2017, pp. 271–286.
5. Tomiałojć L. Quantitative studies on the synanthropic avifauna of Legnica and its environs. *Acta Ornithologica*, 1970, vol. 12, pp. 293–392.
6. Ferenc M., Sedláček O., Fuchs R., Dinetti M., Fraissinet M., Storch D. Are cities different? Patterns of species richness and beta diversity of urban bird communities and regional species assemblages in Europe. *Global Ecology and Biogeography*, 2014, vol. 23, no. 4, pp. 479–489. <https://doi.org/10.1111/geb.12130>
7. Sakhvon V. V. Longitude patterns in breeding bird species richness in cities. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Ekologiya = Journal of the Belarusian State University. Ecology*, 2019, no. 4, pp. 29–35 (in Russian).
8. Sakhvon V. V. Species richness and ecological structure of bird assemblages in urban areas in Belarus. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2018, no. 1, pp. 95–102 (in Russian).
9. Demyanchik V. V., Nikiforov M. E. Synanthropic ecological complex and structure of the population of vertebrate animals of residential territories of Belarusian Polesie. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, vol. 62, no. 3, pp. 7–17 (in Russian).
10. Demyanchik V. V., Nikiforov M. E. Change of the synanthropic complex of land vertebrate animals of the southwest of Belarus for the centenary period. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 3, pp. 286–297 (in Russian).
11. Yankov P. N., Yaminskii B. V. Comparative assessment of southern and central European cities based on the origin of avifauna. *Vestsi Akademii navuk BSSR. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the Academy of Sciences of BSSR. Biological series*, 1981, no. 4, pp. 111–115 (in Russian).
12. Yankov P. N., Yaminskii B. V. Some problems in studying of avifauna of large cities. *Voprosy eksperimental'noy zoologii : sbornik trudov 1-i nauchnoi konferentsii molodykh uchenykh Instituta zoologii AN BSSR (25 dekabrya 1981 goda)* [Questions of experimental zoology : collection of works of the 1st scientific conference of young scientists of the Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the BSSR (December 25, 1981)]. Minsk, 1983, pp. 51–57 (in Russian).

13. Sakhvon V. V., Dombrovskii V. Ch. Interannual dynamics of breeding bird assemblage within the republican natural monument “Dubrava” (Minsk). *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2018, no. 3, pp. 48–54 (in Russian).
14. Sakhvon V. V., Fedorinchik K. A. Interannual dynamics of breeding bird assemblage within the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (Minsk). *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2020, no. 2, pp. 66–74 (in Russian).
15. Fedyushin A. V., Dolbik M. S. *Birds of Belarus*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1967. 520 p. (in Russian).
16. Ul'yanava V. V. Avifauna of Minsk and its distribution. *Vestsi Akademii navuk BSSR. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the Academy of Sciences of BSSR. Biological series*, 1979, no. 4, pp. 110–114 (in Russian).
17. Shaikin R. V. Species composition and number of warbler birds in the Loshitsa park and the Botanical garden in Minsk. *Strukturno-funktsional'noe sostoyanie biologicheskogo raznoobraziya zhitvotnogo mira Belarusi : tezisy dokladov VIII Zoologicheskoi nauchnoi konferentsii* [Structural and functional state of biological diversity of the animal world of Belarus : abstracts of the VIII Zoological scientific conference]. Minsk, 1999, pp. 144–145 (in Russian).
18. Yurko V. V. The composition and structure of the bird population in Minsk. *Antropogennaya dinamika landshaftov i problemy sokhraneniya i istoichivogo ispol'zovaniya biologicheskogo raznoobraziya : materialy respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Minsk, 26–28 dekabrya 2001 goda)* [Anthropogenic dynamics of landscapes and problems of conservation and sustainable use of biological diversity : materials of the Republican scientific-practical conference (Minsk, December 26–28, 2001)]. Minsk, 2002, pp. 198–200 (in Russian).
19. Krasovskii K. K. Urbanization in Belarus: spatial and temporal dynamics. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya = Bulletin of the Belarusian State University. Series 2, Chemistry. Biology. Geography*, 2002, no. 2, pp. 64–70 (in Russian).
20. Radchikova E. S. Study of history of hydrographic network transformation of urbanized territories on the example of Minsk. *Rossiiskii zhurnal prikladnoi ekologii* [Russian journal of applied ecology], 2017, no. 1, pp. 44–49 (in Russian).
21. Dolbik M. S. *Landscape structure of the avifauna of Belarus*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1974. 308 p. (in Russian).
22. Gomel' K. V. Ecological structure of waterbirds in Minsk. *Ekologicheskaya kul'tura i okhrana okruzhayushchei sredy: II Dorofeevskie chteniya : materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Vitebsk, 29–30 noyabrya 2016 goda)* [Ecological culture and environmental protection : II Dorofeevskie readings: materials of the international scientific-practical conference (Vitebsk, November 29–30, 2016)]. Vitebsk, 2016, pp. 186–187 (in Russian).
23. Grichik V. V. Nesting of Booted warbler *Iduna caligata* in Minsk. *Russkii ornitologicheskii zhurnal* [Russian ornithological journal], 2020, vol. 29, no. 209, pp. 5820–5823 (in Russian).
24. Samusenko I. E., Pyshko A. S., Bogdanovich I. A., Pavlyushchik T. E., Khaupt M. The largest in Belarus roof-top colony of large white-headed gulls: main results of 2018 investigations. *Zoologicheskie chteniya : sbornik statei Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii “Zoologicheskie chteniya – 2019”, posvyashchennoi 90-letiyu Grodnenskogo zoologicheskogo parka (Grodno, 20–22 marta 2019 goda)* [Zoological readings : a collection of articles of the International scientific-practical conference “Zoological Readings – 2019”, dedicated to the 90th anniversary of the Grodno Zoological Park (Grodno, March 20–22, 2019)]. Grodno, 2019, pp. 246–250 (in Russian).
25. Donnelly R., Marzluff J. M. Importance of reserve size and landscape context to urban bird conservation. *Conservation Biology*, 2004, vol. 18, no. 3, pp. 733–745. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00032.x>
26. Sakhvon V., Kövér L. Distribution and habitat preferences of the urban Woodpigeon (*Columba palumbus*) in the north-eastern breeding range in Belarus. *Landscape and Urban Planning*, 2020, vol. 201, p. 103846. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2020.103846>
27. Clergeau P., Croci S., Jokimäki J., Kaisanlahti-Jokimäki M.-L., Dinetti M. Show more Avifauna homogenisation by urbanisation: analysis at different European latitudes. *Biological Conservation*, 2006, vol. 127, no. 3, pp. 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.06.035>
28. Leveau L. V. Bird traits in urban-rural gradients: how many functional groups are there? *Journal für Ornithology*, 2013, vol. 154, no. 3, pp. 655–662. <https://doi.org/10.1007/s10336-012-0928-x>
29. Sakhvon V. V. Development and distribution of synurbic population of Hooded Crow (*Corvus cornix*) in Minsk (Belarus). *Vesnik Vitebskaga dzyarzhavnaga universiteta* [Bulletin of Vitebsk State University], 2018, no. 1 (98), pp. 95–102 (in Russian).
30. Sakhvon V. V. Breeding density and distribution of Magpie (*Pica pica*) in Minsk. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funktsionirovaniya biosistem* [Proceedings of the Belarusian State University. Series: Physiological, biochemical and molecular foundations of the functioning of biosystems], 2016, vol. 11, no. 2, pp. 286–290 (in Russian).

Информация об авторах

Сакхвон Виталий Валерьевич – канд. биол. наук, доцент, заместитель декана. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sakhvon@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-6673-8118>

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

Information about the authors

Vital V. Sakhvon – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Deputy Dean. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sakhvon@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-6673-8118>

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

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.218
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-426-432>

Поступила в редакцию 04.03.2021
Received 04.03.2021

П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева, О. Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ГЕН ЯБЛОНИ *MD13G1109800* ОТНОСИТСЯ К ТРАНСКРИПЦИОННЫМ ФАКТОРАМ СЕМЕЙСТВА TRIHELIX И ЭКСПРЕССИРУЕТСЯ В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Аннотация. В ответе растения на различные виды абиотического стресса важную роль играет семейство транскрипционных факторов Trihelix. В представленной работе методами биоинформатики в геноме яблоны сорта Golden Delicious *in silico* был идентифицирован ген *MD13G1109800*, принадлежащий к этому семейству. Анализ хромосомной локализации показал, что он расположен на 13-й хромосоме и имеет четыре интрона. Кодированный им гипотетический белок имеет длину 365 аминокислотных остатков, молекулярную массу 42097,23 Да, изоэлектрическую точку $pI = 6,21$. Оценка его внутриклеточной локализации показала, что он находится в ядре. Анализ промоторной области гена *MD13G1109800* указывает на то, что кодируемый им белок является участником множества сигнальных путей, запускаемых как внешними, так и внутренними факторами. Уровень экспрессии гена *MD13G1109800* у подвоя яблоны ММ-106 возрастает при воздействии засухи, низкой и высокой температуры, засоления.

Ключевые слова: стресс, яблоны, Trihelix, абиотические факторы, экспрессия, qPCR, транскрипционные факторы, сорт ММ-106

Для цитирования: Кузмицкая, П. В. Ген яблоны *MD13G1109800* относится к транскрипционным факторам семейства Trihelix и экспрессируется в ответ на воздействие абиотических стрессовых факторов / П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева, О. Ю. Урбанович // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 426–432. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-426-432>

Polina V. Kuzmitskaya, Katsiaryna S. Karaleva, Oksana Yu. Urbanovich

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

APPLE GENE *MD13G1109800* IS A MEMBER OF TRIHELIX FAMILY TRANSCRIPTION FACTORS AND EXPRESSED IN RESPONSE TO ABIOTIC STRESS

Annotation. The Trihelix family of transcription factors plays an important role in the plant's response to various abiotic stress types. In this work in apple Golden Delicious genome we identified apple gene *MD13G1109800* as a member of Trihelix family *in silico*. Analysis of chromosomal localization showed that it is located on chromosome 13 and has four introns. The hypothetical protein encoded by it has a length of 365 amino acid residues, a molecular weight of 42097.23 Da, an isoelectric point $pI = 6.21$ and located in the nucleus. Analysis of the promoter region of the *MD13G1109800* gene indicates that its product is a member of many signaling pathways triggered by both external and internal factors. The expression level of the *MD13G1109800* gene increases under drought, low and high temperatures, as well as salinity in the MM-106 apple rootstock.

Keywords: stress, apple, Trihelix, abiotic factors, expression, qPCR, transcription factors, variety MM-106

For citation: Kuzmitskaya P. V., Karaleva K. S., Urbanovich O. Yu. Apple gene *MD13G1109800* is a member of Trihelix family transcription factors and expressed in response to abiotic stress. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 426–432 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-426-432>

Введение. Молекулярные механизмы устойчивости растений к абиотическим стрессовым факторам являются одной из наиболее актуальных проблем современной генетики культурных растений, что объясняется ее большой экономической важностью. Различные стрессовые факторы, такие как засуха, засоление, низкие и высокие температуры, оказывают отрицательное влияние на рост и развитие растений, в том числе и культурных, в результате чего может снижаться их продуктивность и ограничиваться география возделывания сортов, не приспособленных к воздействию экстремальных факторов среды, но в то же время ценных по другим признакам. Изучение механизмов формирования устойчивости к неблагоприятным факторам может способ-

ствовать созданию новых сортов, пригодных для возделывания в странах с холодным климатом, к которым относится и Беларусь.

Поскольку растения неподвижны, единственный способ выжить в непостоянных и не всегда оптимальных условиях окружающей среды заключается в их быстрой и эффективной адаптации к изменяющимся условиям. В ответ на разнообразные стрессовые абиотические факторы окружающей среды (засуха, высокие и низкие температуры, засоление) запускается экспрессия множества генов, продукты которых защищают растение. Некоторые из них индуцируются исключительно при воздействии определенных условий, например только при засухе или только при низких температурах, в то время как другие экспрессируются при воздействии различных экологических факторов [1–3]. В ответе растения на различные виды абиотического стресса важную роль играет семейство транскрипционных факторов Trihelix. Изучение паттернов экспрессии генов, кодирующих белки с доменом Trihelix, показало, что они участвуют во множестве процессов, происходящих в течение жизни растения. У риса экспрессия транскрипционных факторов семейства Trihelix происходит в четырех тканях на шести стадиях развития, однако паттерны их экспрессии различаются. Количественная ОТ-ПЦР показала, что на уровень их экспрессии влияет абиотический стресс (засуха, засоление), а также сигнальные молекулы, такие как абсцизовая кислота и пероксид водорода [4]. У арабидопсиса гены, относящиеся к подсемейству GT1, могут участвовать в ответе на засоление и атаку патогенов [5]. У проростков сои транскрипционные факторы GmGT-2A и GmGT-2B, относящиеся к семейству Trihelix, индуцируются абсцизовой кислотой, засухой, высоким уровнем солей и холодом [6].

В последние годы семейство транскрипционных факторов Trihelix активно исследуется. Систематические работы проведены на таких растениях, как арабидопсис, томат, хризантема и рис. Так, у арабидопсиса обнаружено 30 членов этого семейства, которые относились к нескольким подсемействам (GT-1, GT-2, GT γ , SH4 и SIP1) [7]. У томата выявлено 96 относящихся к семейству Trihelix белков, которые классифицированы в 6 подсемейств (GT-1, GT-2, SH4, SIP1, GT γ и GT δ) [8]. Последнее семейство не обнаружено у арабидопсиса. В геноме риса обнаружен 41 ген, кодирующий транскрипционные факторы семейства Trihelix, которые представлены членами 5 подсемейств (SIP1, GT γ , GT, SH4 и GT δ) [4].

Яблоня является наиболее значимой плодовой культурой для Беларуси. Ее урожайность зависит от множества факторов среды, включая освещенность, температурный и водный режимы, состав почвы и многие другие. Идентификация и изучение генов, влияющих на реакцию растений на стрессовые воздействия, позволят улучшить понимание молекулярных механизмов их роста и развития.

Цель работы – идентификация одного из генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства Trihelix, в геноме яблони домашней сорта Golden Delicious, анализ структурной организации кодируемого им гипотетического белка, оценка его промоторной области и изучение его экспрессии в ответ на воздействие четырех стрессовых факторов – пониженной (4 °C) и повышенной (40 °C) температуры, засоления (NaCl, 200 mM), засухи.

Материалы и методы исследования. Для идентификации гена *MD13G1109800* использовали НММ-основанный поиск. Белковая модель домена Myb/SANT-LIKE (PF13837), характерного для транскрипционных факторов семейства Trihelix, была загружена из базы данных PFAM [9] и использована для поиска совпадений среди гипотетических белковых последовательностей яблони с помощью hmmer3 (<http://hmmer.org/>). Нуклеотидные и гипотетические белковые последовательности генов яблони (*Malus × domestica*, сорт Golden Delicious) получены из базы данных Genome Database for Rosaceae (<https://www.rosaceae.org/>), последовательности хромосом – из базы данных NCBI GenBank. Обнаруженные потенциальные совпадения протестированы путем сканирования с помощью SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>). Последовательности, содержащие домен Myb/SANT-LIKE, рассматривались как кандидаты на роль транскрипционных факторов, относящихся к семейству Trihelix. Одним из них был ген *MD13G1109800*.

Молекулярная масса, изоэлектрическая точка и внутриклеточная локализация гипотетического белка яблони рассчитаны с помощью сервиса <https://www.exPASy.org/>. Для изучения регуля-

торных элементов гена проведен анализ последовательности ДНК длиной 2000 п. н. выше первого кодона. Выявление цис-регуляторных элементов проводили с помощью PlantPAN 2.0 (<http://plantpan2.itps.ncku.edu.tw/>).

В исследовании были использованы двухлетние клоновые подвои яблони сорта ММ-106. Считается, что подвои ММ-106 обладают средней морозоустойчивостью и низкой устойчивостью к засухе. Подвои выращивали в условиях длинного светового дня 16 ч/8 ч (день/ночь) при температуре 22 °С. Для изучения экспрессии гена *MD13G1109800* растения были поделены на 5 групп, одна из которых (контрольная) оставалась в описанных выше условиях, вторую группу подвергли действию пониженной температуры (4 °С), третью – воздействию NaCl в концентрации 200 mM, четвертую – воздействию повышенной температуры (40 °С), пятую – воздействию засухи путем извлечения растений из земли и помещения сухих корней на фильтровальную бумагу. В каждой группе было по три дерева. Отбор листьев осуществляли на 0, 2, 4, 24-м часу воздействия всех вышеперечисленных факторов. В этих же точках проводили отбор материала у контрольных растений. Нулевая точка отбора была непосредственно после воздействия стрессового фактора. Отобранные листья незамедлительно замораживали в жидком азоте.

Выделение РНК из замороженных листьев проводили с использованием СТАВ (цетил-триметил-аммоний-бромид) метода [10]. Качество выделенной РНК определяли с помощью электрофореза в агарозном геле. Концентрацию полученной РНК измеряли с помощью прибора NanoDrop (ND-8000 Spectrophotometer, Thermo scientific). Очистку РНК от ДНК осуществляли реактивом DNase I, RNase-free (Thermo Scientific, EU) в соответствии с протоколом. Синтез минус-цепи кДНК был проведен с помощью RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, EU) в соответствии с протоколом производителя.

К гену *MD13G1109800*, идентифицированному в этом исследовании, нами были сконструированы праймеры для постановки qRT-PCR (прямой – GGTGCAATATACCGCGGTG, обратный – CCTTGCACAGTGGCCTC). При оценке эффективности представленной пары праймеров по реакции qRT-PCR на матрице кДНК сорта ММ-106 было установлено, что она входит в диапазон допустимых значений – 90–110 % [11]. По приведенной выше реакции была оценена специфичность приведенной пары праймеров, график кривой плавления показал наличие одного острого пика, что гарантирует амплификацию уникального фрагмента кДНК. Реакцию амплификации проводили с помощью прибора CFX96 Real Time System (Bio-Rad, США). Конечный объем реакционной смеси составил 20 мкл, в состав которой входит 4 мкл qPCRmix-HS SYBR (Евроген), 1 мкл (5 pmol/мкл) праймеров F и R, 2 мкл кДНК, 12 мкл стерильной деионизированной воды. Программа амплификации: предварительная денатурация при 95 °С (5 мин), затем 38 циклов при 95 °С (20 с), 58 °С (20 с) и 72 °С (20 с). На каждом цикле происходило считывание флуоресценции красителя SYBR-green. В качестве внутреннего контроля был выбран фактор элонгации *Ef-1a* [12]. В качестве отрицательного контроля вместо кДНК использовали равное количество деионизированной воды. Для анализа экспрессии гена, кодирующего *MD13G1109800*, в ответ на действие абиотических стрессовых факторов было использовано по три биологических повтора на каждое условие. Подсчет относительного уровня экспрессии исследуемых генов осуществляли по методу $2^{-\Delta\Delta CT}$, где $\Delta\Delta CT = (CT_D - CT_B) - (CT_C - CT_A)$, где А, В – референсные гены контрольных и подвергнутых действию стресса растений; С, D – исследованные гены контрольных и подвергнутых действию стресса растений соответственно [13].

Результаты и их обсуждение. Ген *MD13G1109800* идентифицирован как имеющий характерный домен для транскрипционных факторов семейства Trihelix с помощью ПО hmmer3 и HMM-профиля, загруженного из базы данных PFAM. Подтверждение его принадлежности к семейству

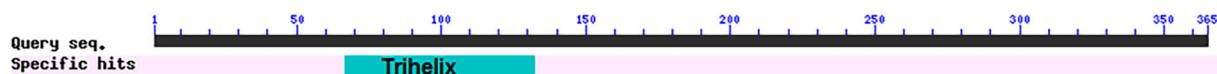


Рис. 1. Расположение характерного консервативного домена Trihelix в последовательности гипотетического белка, кодируемого геном *MD13G1109800*

Fig. 1. Location of the conserved Trihelix domain in a hypothetical protein sequence encoded by the *MD13G1109800* gene



Рис. 2. Экзон-интронная структура гена *MD13G1109800*, кодирующего белок из семейства Trihelix. Цифрами отмечена локализация гена на хромосоме

Fig. 2. Exon-intron structure of the *MD13G1109800* gene encoding a protein from the Trihelix family. The numbers indicate the localization of the gene on the chromosome

Trihelix выполнено с помощью SMART. Расположение характерного консервативного домена Trihelix в последовательности гипотетического белка, кодируемого геном *MD13G1109800*, представлено на рис. 1.

Анализ хромосомной локализации показал, что он расположен на 13-й хромосоме и имеет четыре интрона (рис. 2). Кодированный им гипотетический белок имеет длину 365 аминокислотных остатков, молекулярную массу 42097,23 Да, изоэлектрическую точку $pI = 6,21$. Оценка его внутриклеточной локализации показала, что он находится в ядре.

Анализ промоторной области гена *MD13G1109800* показал, что кодируемый им белок является участником множества сигнальных путей, запускаемых как внешними, так и внутренними факторами. По всей видимости, одним из наиболее значимых регуляторов экспрессии *MD13G1109800* является свет. Об этом свидетельствуют обнаруженные в его промоторной области элементы 3-AF1 binding site, AE-box, ATC-motif, G-box, GTGGC-motif, GT-1, Spl, TCC-motif, TCCC-motif.

Продукт гена *MD13G1109800* может являться участником сигнальных каскадов, запускаемых растительными гормонами: гибберелином (на это указывает обнаруженный в его промоторной области TACT-box), абсцизовой кислотой (о чем свидетельствует наличие элементов ABRE, ABRE3a, ABRE4), ауксином (TGA). Кроме того, регуляторная область гена *MD13G1109800* содержит W-box (последовательность ДНК, с которой происходит связывание транскрипционных факторов семейства WRKY). Они широко представлены в растительных геномах и выполняют множество функций, включая формирование устойчивости к болезням, стрессам, процессам онтогенеза и прочим, включая гормональную регуляцию. Так, геном яблони кодирует 127 его представителей, участие некоторых из них было установлено при воздействии переувлажнения и засухи на растения [14].

В анализируемой области обнаружены также сайты связывания транскрипционных факторов семейства MYB. Они принимают участие в регуляции ответов на биотический и абиотический стресс, включая эпигенетический контроль, гормональные сигнальные пути, регуляцию дифференциации и формы клеток, биосинтез фенилпропаноидов, а также регуляторные элементы, предназначенные для связывания транскрипционных факторов из семейства MYC. Последние являются частью системы гормональной регуляции жасмоновой и салициловой кислотами, участвуют в координации процессов роста и развития растения, в ответе на различные виды стрессовых воздействий и других биологических процессов, например созревании плодов, что было показано для фактора транскрипции MdMYC2, который активируется жасмонатом и в свою очередь является регулятором ERF (ethylene response factor), принимая участие в процессе биосинтеза этилена [15].

Таким образом, обнаруженные в промоторной области гена *MD13G1109800* регуляторные элементы указывают на то, что его продукт принимает участие в регуляции молекулярного ответа на различные воздействия внешней среды, а также на внутренние факторы, обусловленные, например, стадией развития растения. Можно предположить, что экспрессия гена *MD13G1109800* у яблони происходит в нормальных условиях, но ее уровень может меняться в зависимости от типа ткани, стадии жизненного цикла растения, а также воздействия различных факторов внешней среды, в том числе неблагоприятных. Чтобы проверить это предположение, нами проведена оценка профилей экспрессии этого гена у растений яблони, подвергаемым воздействию различных стрессовых факторов (засухи, высокой и низкой температуры, засоления).

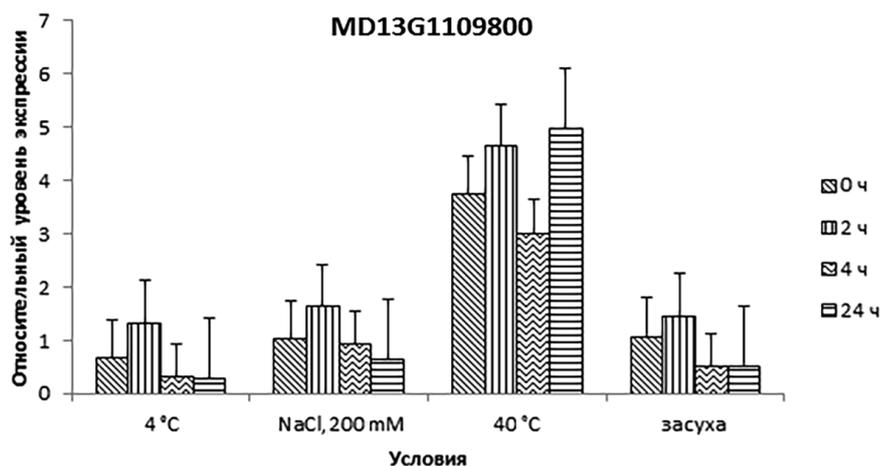


Рис. 3. Профиль экспрессии гена *MD13G1109800*, кодирующего Trihelix, в условиях действия на подвои яблоны сорта ММ 106 пониженной температуры (4 °C), засоления (NaCl, 200 mM), повышенной температуры (40 °C), засухи на протяжении 0, 2, 4, 24 ч. Данные нормализованы относительно гена домашнего хозяйства яблоны *Efl-α*. Вертикальные полосы отображают стандартную ошибку среднего. Уровень значимости – $\alpha = 0,05$

Fig. 3. Profile of the *MD13G1109800* gene encoding Trihelix under conditions of low temperature (4 °C), salinity (NaCl, 200 mM), elevated temperature (40 °C), drought on apple stocks of MM 106 variety for 0, 2, 4, 24 h. Data were normalized for the apple housekeeping gene *Efl-α*. The vertical bars represent the standard error of the mean. Significance level is $\alpha = 0.05$

Для оценки изменения уровня экспрессии гена яблоны *MD13G1109800*, принадлежащего к семейству Trihelix, в условиях действия стресса, вызванного пониженной температурой (4 °C), засолением, повышенной температурой (40 °C) и засухой, проведена количественная ПЦР в режиме реального времени. Для постановки этой реакции были использованы праймеры, приведенные в разделе *Материалы и методы*. Результат проведенной реакции отображен на рис. 3 в виде графика. Согласно полученным результатам, максимальный уровень экспрессии гена *MD13G1109800* при воздействии всех стрессовых факторов, за исключением повышенной температуры, наблюдается на 2-м часу их воздействия, при повышенной температуре – на 24-м часу воздействия. Как видно из графика, воздействие повышенной температуры вызывает повышенный уровень экспрессии гена *MD13G1109800* относительно других условий стрессового воздействия. Так, максимум экспрессии *MD13G1109800* на 2-м часу воздействия повышенной температуры составил 4,64, а на 24-м часу – 4,97. В условиях действия трех стрессовых факторов – пониженной температуры, засоления и засухи – у исследуемого гена можно отметить наличие тенденции к увеличению уровня его экспрессии с максимумом на 2-м часу воздействия факторов и последующим его снижением к 24-му часу, причем на 4-м и 24-м часу уровень его экспрессии ниже относительно 0-го часа воздействия (за 0-й час принято время отбора материала после помещения растений в экспериментальные условия). Распределение уровня экспрессии *MD13G1109800* по часам в ответ на воздействие повышенной температуры имеет совершенно другую тенденцию: повышенный уровень экспрессии можно отметить как на 2-м, так и на 24-м часу воздействия, однако в отличие от воздействия других приведенных выше стрессовых факторов максимальный уровень экспрессии приходится на 24-й час.

Полученные данные соотносятся с результатами исследований экспрессии генов семейства Trihelix на других объектах (арабидопсис, томат, рис). Так, показано, что большинство из них экспрессируется в нормальных условиях, но при воздействии стресса уровень их экспрессии может значительно изменяться [4, 7, 8]. Например, у риса все 12 генов, экспрессирующихся в листьях, так или иначе отреагировали на стрессовые воздействия либо на обработку стрессовыми сигнальными молекулами, но уровни их экспрессии отличались [4]. Анализ экспрессии генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства Trihelix у *Phyllostachys edulis*, одного из видов бамбука, показал, что большинство генов высоко экспрессируется в условиях засухи, однако при низких температурах и воздействии солевого стресса их экспрессия снижается [16].

Заклученне. Методамі біоінфарматыкі ген яблони *MD13G1109800* ідэнтыфіцыраван як адзін з транскрыпцыйных фактараў сямейства Trihelix. Ааналіз хромасомнай лакалізацыі паказаў, што ён размяшчаецца на 13-й хромасоме і мае чатыры інтрона. Кодзіруемы ім гіпотэтычны белок мае даўжыню 365 амінакіслотных астаткаў, молекулярную масу 42097,23 Да, ізоэлектрычную точку $pI = 6,21$. Ацэнка яго вунутрыклеточнай лакалізацыі паказала, што ён знаходзіцца ў ядры. Ааналіз праматорнай абласці гена *MD13G1109800* указвае на тое, што кодзіруемы ім белок з’яўляецца ўдзельнікам мноства сігнальных шляхаў, запускаяемых як вонешнімі, так і вунутрышнімі фактарамі. Уровень экспрэсіі гена *MD13G1109800* у падвоя яблони ММ-106 павялічваецца пры ўздзеянні засухі, нізкай і высокай тэмпературы, а таксама засалення.

Спісок іспользаваных істочнікаў

1. Ingram, J. The molecular basis of dehydration tolerance in plants / J. Ingram, D. Bartels // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1996. – Vol. 47, N 1. – P. 377–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377>
2. Shinozaki, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response / K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // *Plant Physiol.* – 1997. – Vol. 115, N 2. – P. 327–334. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.327>
3. Shinozaki, K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways / K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2000. – Vol. 3, N 3. – P. 217–223. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(00\)80068-0](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(00)80068-0)
4. Genome-wide characterization and identification of trihelix transcription factor and expression profiling in response to abiotic stresses in rice (*Oryza sativa* L.) / J. Li [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 3. – P. 251. <https://doi.org/10.3390/ijms20020251>
5. Murata, J. Characterization of a novel GT-box binding protein from Arabidopsis / J. Murata, H. Takase, K. Hiratsuka // *Plant Biotechnol.* – 2002. – Vol. 19, N 2. – P. 103–112. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.19.103>
6. Soybean trihelix transcription factors GmGT-2A and GmGT-2B improve plant tolerance to abiotic stresses in transgenic Arabidopsis / Z.-M. Xie [et al.] // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4, N 9. – P. e6898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006898>
7. Repression of seed maturation genes by a trihelix transcriptional repressor in *Arabidopsis* seedlings / M. J. Gao [et al.] // *Plant Cell.* – 2009. – Vol. 21, N 1. – P. 54–71. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.061309>
8. Genome-wide identification and expression profiling analysis of trihelix gene family in tomato / C. Yu [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2015. – Vol. 468, N 4. – P. 653–659. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.010>
9. The Pfam protein families database in 2019 / S. El-Gebali [et al.] // *Nucl. Acids Res.* – 2018. – Vol. 47, N D1. – P. D427–D432. <https://doi.org/10.1093/nar/gky995>
10. Isolation of high quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit / L. Jaakola [et al.] // *Mol. Biotechnol.* – 2001. – Vol. 19, N 2. – P. 201–203. <https://doi.org/10.1385/MB:19:2:201>
11. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments / S. A. Bustin [et al.] // *Oxford University Press.* – 2009. – Vol. 55, N 4. – P. 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
12. Genome-wide analysis and expression profiling of the DREB transcription factor gene family in *Malus* under abiotic stress / T. Zhao [et al.] // *Mol. Genet. Genomics.* – 2012. – Vol. 287, N 5. – P. 423–436. <https://doi.org/10.1007/s00438-012-0687-7>
13. An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis / X. Rao [et al.] // *Biostat. Bioinform. Biomath.* – 2013. – Vol. 3, N 3. – P. 71–85.
14. Genome-wide identification and characterization of WRKY transcriptional factor family in apple and analysis of their responses to waterlogging and drought stress / D. Meng [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol. 103. – P. 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.006>
15. The jasmonate-activated transcription factor MdMYC2 regulates ethylene response factor and ethylene biosynthetic genes to promote ethylene biosynthesis during apple fruit ripening / T. Li [et al.] // *Plant Cell.* – 2017. – Vol. 29, N 6. – P. 1316–1334. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00349>
16. Genome-wide identification of trihelix genes in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and their expression in response to abiotic stress / H. Gao [et al.] // *J. Plant Growth Reg.* – 2019. – Vol. 38. – P. 1127–1140. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09918-9>

References

1. Ingram J., Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, vol. 47, no. 1, pp. 377–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377>
2. Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiology*, 1997, vol. 115, no. 2, pp. 327–334. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.327>
3. Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, vol. 3, no. 3, pp. 217–223. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(00\)80068-0](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(00)80068-0)
4. Li J., Zhang M., Sun J., Mao X., Wang J., Wang J. [et al.]. Genome-wide characterization and identification of trihelix transcription factor and expression profiling in response to abiotic stresses in rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 3, p. 251. <https://doi.org/10.3390/ijms20020251>

5. Murata J., Takase H., Hiratsuka K. Characterization of a novel GT-box binding protein from Arabidopsis. *Plant Biotechnology*, 2002, vol. 19, no. 2, pp. 103–112. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.19.103>
6. Xie Z.-M., Zou H.-F., Lei G., Wei W., Zhou Q.-Y., Niu C.-F. [et al.]. Soybean trihelix transcription factors GmGT-2A and GmGT-2B improve plant tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis*. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4, no. 9, p. e6898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006898>
7. Gao M. J., Lydiate D. J., Li X., Lui H., Gjetvaj B., Hegedus D. D. [et al.]. Repression of seed maturation genes by a trihelix transcriptional repressor in Arabidopsis seedlings. *Plant Cell*, 2009, vol. 21, no. 1, pp. 54–71. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.061309>
8. Yu C., Cai X., Ye Z., Li H. Genome-wide identification and expression profiling analysis of trihelix gene family in tomato. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, vol. 468, no. 4, pp. 653–659. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.010>
9. El-Gebali S., Mistry J., Bateman A., Eddy S. R., Luciani A., Potter S. C. [et al.]. The Pfam protein families database in 2019. *Nucleic Acids Research*, 2018, vol. 47, no. D1, pp. D427–D432. <https://doi.org/10.1093/nar/gky995>
10. Jaakola L., Pirttilä A. M., Halonen M., Hohtola A. Isolation of high quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit. *Molecular Biotechnology*, 2001, vol. 19, no. 2, pp. 201–203. <https://doi.org/10.1385/MB:19:2:201>
11. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M. [et al.]. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Oxford University Press*, 2009, vol. 55, no. 4, pp. 611–622. <https://doi.org/10.1093/clinchem.2008.112797>
12. Zhao T., Liang D., Wang P., Liu J., Ma F. Genome-wide analysis and expression profiling of the DREB transcription factor gene family in *Malus* under abiotic stress. *Molecular Genetics and Genomics*, 2012, vol. 287, no. 5, pp. 423–436. <https://doi.org/10.1007/s00438-012-0687-7>
13. Rao X., Huang X., Zhou Z., Lin X. An improvement of the 2^{-ΔΔCT} method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics*, 2013, vol. 3, no. 3, pp. 71–85.
14. Meng D., Li Y., Bai Y., Li M., Cheng L. Genome-wide identification and characterization of WRKY transcriptional factor family in apple and analysis of their responses to waterlogging and drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, vol. 103, pp. 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.006>
15. Li T., Xu Y., Zhang L., Ji Y., Tan D., Yuan H. [et al.]. The jasmonate-activated transcription factor MdMYC2 regulates ethylene response factor and ethylene biosynthetic genes to promote ethylene biosynthesis during apple fruit ripening. *Plant Cell*, 2017, vol. 29, no. 6, pp. 1316–1334. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00349>
16. Gao H., Huang R., Liu J., Gao Z., Zhao H., Li X. Genome-wide identification of trihelix genes in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and their expression in response to abiotic stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, vol. 38, pp. 1127–1140. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09918-9>

Информация об авторах

Кузмицкая Полина Викторовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: p.kuzmitskaya@igc.by

Королева Екатерина Сергеевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.koroleva@igc.by

Урбанович Оксана Юрьевна – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: o.urbanovich@igc.by

Information about the authors

Polina V. Kuzmitskaya – 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: p.kuzmitskaya@igc.by

Katsiaryna S. Karaleva – 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: e.koroleva@igc.by

Oksana Yu. Urbanovich – D. Sc. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: o.urbanovich@igc.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 382.32 (4-11)
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-433-443>

Поступила в редакцию 02.04.2021
Received 02.04.2021

О. М. Масловский

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

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БРИОФЛОРИСТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ

Аннотация. Для оценки пространственного распределения видов мохообразных на территории Восточной Европы было проанализировано более 53 000 местонахождений 1296 видов по 397 квадратам размером 100×100 км. По частоте встречаемости в Восточной Европе преобладают редкие (от 6 до 25 квадратов) и очень редкие (от 1 до 5 квадратов) виды. Показано, что более 60 % таксономического разнообразия мохообразных находится в угрожаемом или близком к угрожаемому состоянию на территории региона. На основании биогеографического районирования выделено 6 регионов (альпийский, арктический, бореальный, неморальный, аридный, субтропический) и 12 субрегионов. Показаны особенности таксономического разнообразия мохообразных регионов и субрегионов, приведены характерные виды и выявлены центры концентрации видового биоразнообразия бриофитов в Восточной Европе. Только в одном субрегионе присутствуют 162 вида, во всех регионах и субрегионах встречаются 68 таксонов мохообразных. Максимальное видовое разнообразие наблюдается в альпийском регионе (1066 видов), что объясняется общим характером биологических особенностей мохообразных, разнообразием экологических условий в данном регионе и наличием на территории Восточной Европы 4 различных в географическом отношении горных субрегионов: запад Кольского полуострова, Урал, Карпаты и предгорья Кавказа.

Ключевые слова: мохообразные, Восточная Европа, бриофлора, таксономический анализ, биоразнообразие, биогеография, бриофлористические комплексы

Для цитирования: Масловский, О. М. Таксономический анализ бриофлористических комплексов Восточной Европы / О. М. Масловский // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 433–443. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-433-443>

Oleg M. Maslovsky

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

TAXONOMIC ANALYSIS OF BRYOFLORESTIC COMPLEXES OF EASTERN EUROPE

Abstract. To assess the spatial distribution of bryophyte species in Eastern Europe, more than 53,000 localities of 1296 species were analyzed in 397 squares of 100×100 km. In terms of frequency of occurrence, rare species (from 6 to 25 squares) and very rare (from 1 to 5 squares) prevail in Eastern Europe. It was shown that more than 60 % of the taxonomic diversity of bryophytes is in a threatened or close to threatened state in the region. Based on biogeographic zoning, 6 regions (alpine, arctic, boreal, nemoral, arid, subtropical) and 12 subregions were identified. The characteristics of the taxonomic diversity of bryophyte regions and subregions are given, specific species are given and the centers of concentration of bryophyte species diversity in Eastern Europe are identified. There are 162 species in only one subregion, and 68 bryophyte taxa are found in all regions and subregions. The maximum species diversity is observed in the Alpine region (1066 species), which is explained by the general nature of the biological characteristics of bryophytes, the variety of ecological conditions in this region and the presence in Eastern Europe of 4 geographically different mountain subregions: the west of the Kola Peninsula, the Urals, the Carpathians and the foothills of the Caucasus.

Keywords: bryophytes, Eastern Europe, bryoflora, taxonomic analysis, biodiversity, biogeography, bryofloristic complexes

For citation: Maslovsky O. M. Taxonomic analysis of bryofloristic complexes of Eastern Europe. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 433–443 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-433-443>

Введение. Флористические объекты приурочены к определенным территориям и являются частями геосистем, находясь в тесной взаимосвязи с другими ее компонентами. Ранее [1] нами были показаны иерархический характер и связь флористических объектов с определенным рангом геосистем, поэтому целесообразно их изучение и сопоставление проводить по единицам

физико-географического районирования, поскольку это позволяет соблюдать целостность и естественность объекта как в пространственном, так и во временном отношении.

В то же время большая часть материала, накопленного на сегодняшний день, относится к территориям, которые выделялись совсем по другим критериям (например, политико-административные единицы, бассейны рек, заповедные объекты, окрестности населенных пунктов и т. п.). Проведение исследований на этих территориях по-своему важно, однако их сопоставление очень затруднено.

Выйти из этого положения можно двумя путями. Во-первых, используя традиционные приемы анализа примерно равных по площади территорий. Это не всегда корректно, но все-таки дает информацию о видовом богатстве, относительной степени сходства и ряде экологических и географических особенностей. Во-вторых, путем вычисления внутри каждой территории естественных контуров одного ранга и проведения отдельного сравнения по ним. Пожалуй, второй путь наиболее оптимальный.

Для изучения истории формирования бриофлоры Беларуси, оценки ее современного состояния и прогнозирования развития в условиях усиления антропогенного воздействия необходимо рассмотреть ее в более широком пространственно-зональном аспекте. В связи с тем что территория Беларуси находится в месте соприкосновения различных природных зон и ее бриофлора представлена различными по происхождению видами, целесообразно рассмотреть бриофлористические комплексы Беларуси в контексте системы бриофлор Восточной Европы.

Цель работы – провести анализ таксономической структуры бриофлористических комплексов Восточной Европы.

Объекты и методы исследования. Для оценки пространственного распределения мохообразных на территории Восточной Европы было проанализировано более 80 000 местонахождений 1296 видов по 397 квадратам размером 100×100 км, т. е. фактически оценивалась плотность распределения количества видов на единицу площади (10 000 км²). Картирование мохообразных осуществлялось путем обработки литературных источников, гербарных материалов и полевых исследований, а также с помощью базовой системы географических карт – Универсального поперечного Меркатора (UTM), который используется для издания Атласа *Florae Europaeae* для сосудистых растений [2]. Географические границы Европы определены нами также по данному изданию (в состав Европы входит только северная часть Кавказа). Картирование арктических островов не включено в цели нашей работы и может быть предметом отдельного исследования.

Полевые флористические исследования проводились автором на территории Беларуси и в ряде регионов Восточной Европы (Литва, Карпаты, Крым, Предуралье, Центрально-лесной заповедник, Кольский полуостров и др.).

Было обработано более 700 литературных источников, в том числе обобщающие публикации о бриофлоре бывшего СССР [3–5], Беларуси [6, 7], Украины [8, 9], Литвы [10], Латвии [11, 12], Эстонии [13], Молдовы [14], России [15–17], многие региональные сводки красных книг. Список основной части базовой литературы представлен в работе [18].

Конечно, полное картографирование всех известных мест распространения бриофитов на такой большой территории, как Восточная Европа, невозможно, поскольку объем бриологической литературы и конкретных данных постоянно растет. В то же время собранная информация дает представление о пространственном распределении видового разнообразия данного региона.

В соответствии с картой биогеографического районирования Европы [19] на территории Восточной Европы было выделено 5 регионов (альпийский, арктический, бореальный, неморальный, аридный). Внутри этих регионов, согласно более детализированной Биогеографической карте Европы [20], также были выделены ряд субрегионов, а также черноморский субтропический регион, что отражало, соответственно, океанические и континентальные особенности.

Таким образом, проведен анализ распространения мохообразных на территории Восточной Европы в следующих регионах и субрегионах (рис. 1): **арктическом** (ARC); **альпийском** (ALP), включая APL1 (запад Кольского полуострова), ALP2 (Урал), ALP3 (Карпаты), ALP4 (предгорья Кавказа); **бореальном** (BOR), включая BOR-KAR (Карелия), BOR-PRI (Прибалтика, северо-запад Беларуси и Российской Федерации), BOR-TAI (северо-восток Беларуси, восточная часть таежной

зоны Российской Федерации); **неморальном** (NEM), подразделяющимся на западный (NEM-ZAP), центральный (NEM-CEN) и восточный (NEM-EAS) субрегионы; **аридном** (ARI), включая западный (ARI-STR) и прикаспийский (ARI-CAS); **черноморском** (BLS).

Республика Беларусь расположена на территории двух регионов – бореальном и неморальном и четырех субрегионов – бореально-прибалтийском (BOR-PRI), бореально-таежном (BOR-TAI), неморально-западном (NEM-ZAP) и неморально-центральном (NEM-CEN).

Результаты и их обсуждение. В целом бриофлора Восточной Европы насчитывает 1296 видов, подвидов и разновидностей мохообразных растений, относящихся к антоцеротовым (3 вида), печеночникам (308), андреевым (9), сфагновым (42) и бриевым (934 вида) мхам. Кроме того, 11 видов приводятся в регионе, но исключительно вне территории нашего исследования (восточно-европейские арктические острова, а также 16 видов на Кавказе).

Распространение на территории региона таких видов с неясным систематическим статусом, как *Anthoceros punctatus* L., *Marchantia polymorpha* ssp. *ruderalis* Bischl. & Boisselier, *Moerckia flotoviana* (Nees) Schiffn., *Riccia crystallina* L. emend. Raddi, *R. perennis* Steph., *Scapania brevicaulis* J. Taylor, *Encalypta pilifera* Funck, *Sciuro-hypnum curtum* (Lindb.) Ignatov, требует дополнительных исследований.

Некоторые таксоны отмечаются для территории Восточной Европы, но их местонахождения были указаны недостаточно точно для однозначного картирования. Это *Lophozia ciliata* Damsh., L. Söderstr. & H. Weibull, *L. heteromorpha* R. M. Schust. & Damsh., *L. pellucida* var. *minor* R. M. Schust., *Metzgeria leptoneura* Spruce, *Scapania curta* var. *grandiretis* R. M. Schust., *Atrichum crispum* (James) Sull., *Crossidium crassinerve* (De Not.) Jur., *Ephemerum crassinervium* (Schwägr.) Hampe, *E. crassinervium* subsp. *sessile* (Bruch) Holyoak, *Hygrohypnum subeugyrium* (Renauld & Cardot) Broth., *Hymenostylium gracillimum* (Nees & Hornsch.) Köckinger & Jan Kučera, *Myuroclada maximoviczii* (G. G. Borshch.) Steere & W. B. Schofield, *Plagiothecium denticulatum* var. *obtusifolium* (Turner) Moore, *Schistidium venetum* H. N. Blom. Все эти таксоны не учтены при анализе их распределения по регионам.

По частоте встречаемости на территории Восточной Европы (рис. 2) преобладают редкие виды (от 6 до 25 квадратов), их более 400. Немного меньше очень редких видов (от 1 до 5 квадратов). Таким образом, более 60 % таксономического разнообразия мохообразных находится в угрожаемом или близком к угрожаемому состоянию на территории региона. Изредка встречающихся видов (от 26 до 50 квадратов) – 186. Количество нередко, часто и очень часто встречающихся видов постепенно снижается.

Распределение видов мохообразных Восточной Европы по регионам и субрегионам представлено на рис. 3.

Максимальное видовое разнообразие наблюдается в альпийском регионе (1066 видов), что объясняется общим характером биологических особенностей мохообразных, разнообразием экологических условий в данном регионе и наличием на территории Восточной Европы 4 различных в географическом отношении горных субрегионов: запад Кольского полуострова, Урал, Карпаты и предгорья Кавказа. Среди них наибольшим видовым разнообразием (726 видов) отличаются Уральские горы (ALP-2), протянувшиеся с севера на юг и примыкающие ко всем широтным зонам региона. Немногим меньшим разнообразием характеризуются Карпаты (ALP-3)

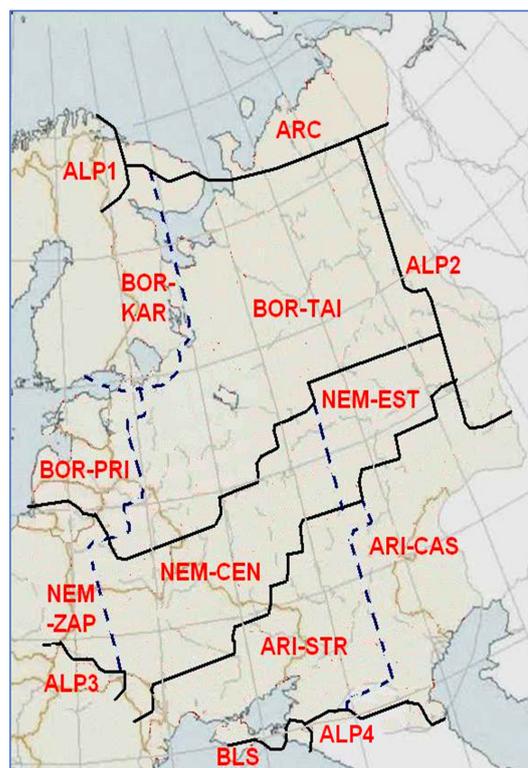


Рис. 1. Биогеографические регионы и субрегионы Восточной Европы

Fig. 1. Biogeographic regions and sub-regions of Eastern Europe

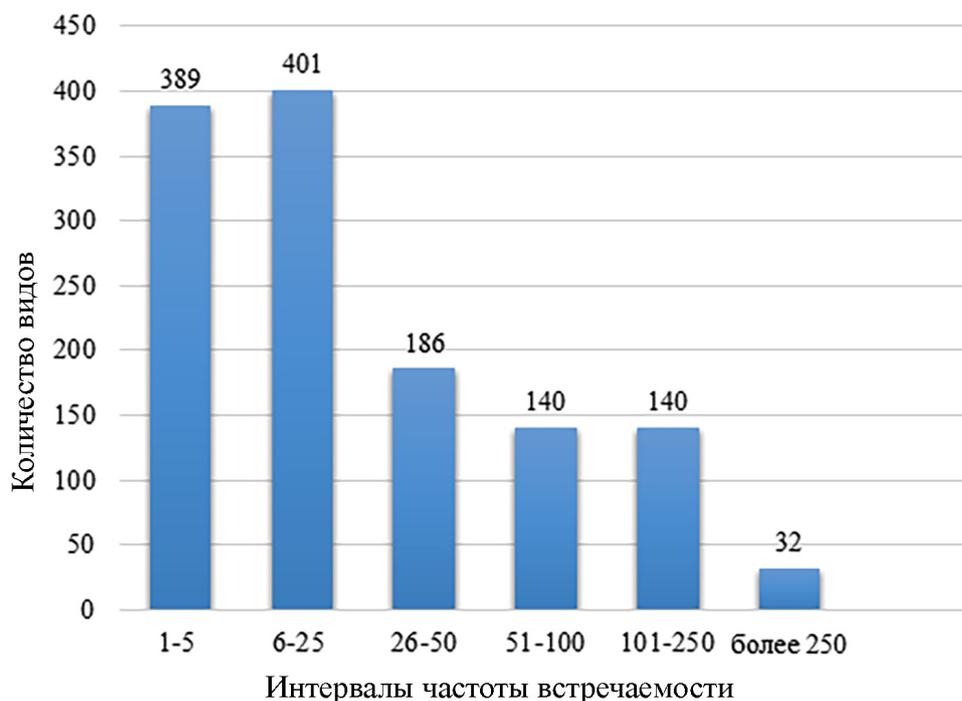


Рис. 2. Распределение видов мохообразных Восточной Европы по частоте встречаемости

Fig. 2. Distribution of bryophyte species of Eastern Europe by frequency intervals

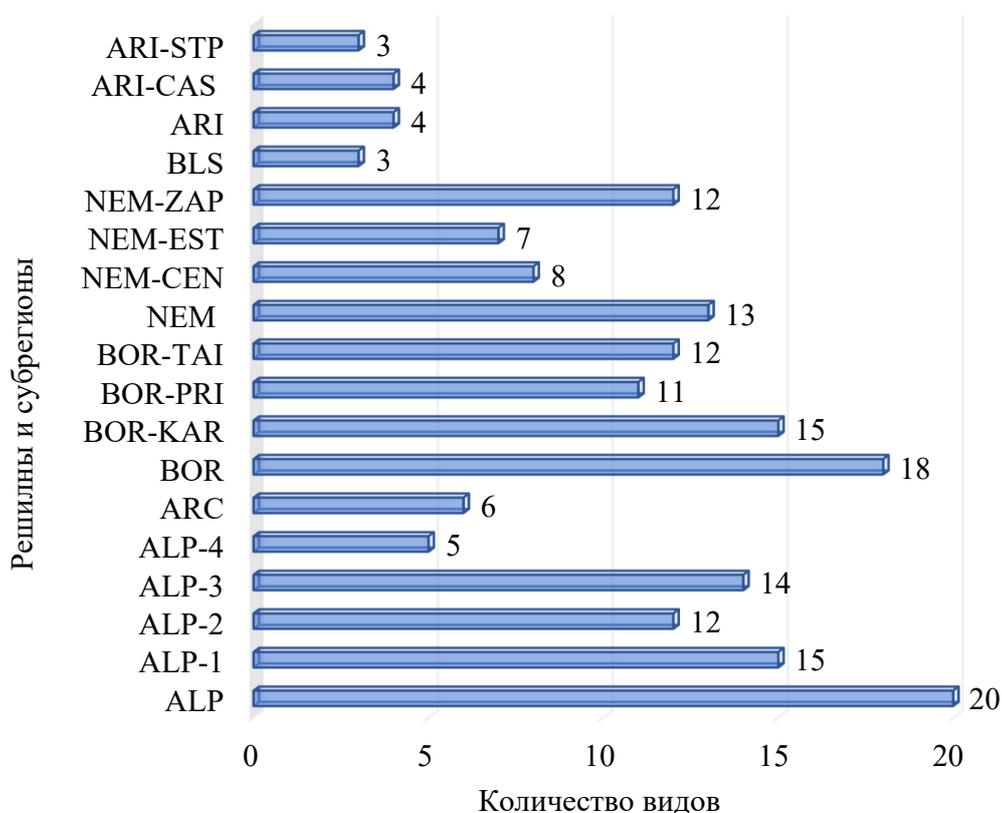


Рис. 3. Распределение видов мохообразных Восточной Европы по регионам и субрегионам

Fig. 3. Distribution of the number of species of bryophytes in Eastern Europe by region and subregion

и европейская часть Кавказа (ALP-4) – 706 и 621 видов соответственно. Наименьшим видовым разнообразием среди горных субрегионов отличается ALP-1 (запад Кольского полуострова) – 463 вида.

Повышенное видовое разнообразие наблюдается также на территории самого большого по площади региона – бореального. Здесь отмечено 1013 видов, причем в бореально-карельском субрегионе (BOR-KAR) выявлено 845 видов, бореально-таежном (BOR-TAI) – 763, бореально-прибалтийском (BOR-PRI) – 665.

Значительно меньше видовое разнообразие в неморальном регионе (716 видов), протянувшимся в Восточной Европе узкой полосой с юго-запада до востока. Наиболее большой по площади среди неморальных субрегионов – BOR-CEN (насчитывает и наибольшее количество видов – 612).

Средним видовым биоразнообразием характеризуются арктический (ARC) и черноморский (BLS) регионы (536 и 513 видов соответственно).

Минимально видовое разнообразие (477 видов) в аридном регионе.

Различается видовое разнообразие по регионам и субрегионам и в крупных таксономических группах (рис. 4, 5). Среди печеночников и антоцеротовых, в силу их эволюционных, биологических и экологических особенностей, а также значительной большей, в отличие от мхов, зависимости от капельно-жидкой влаги, видовое разнообразие минимально в континентальных аридных субрегионах (аридно-каспийский – всего 19 видов, аридно-степной – 35) и смещается в целом от горных территорий (241 вид) к типичным бореальным условиям (260 видов).

Во всех регионах и субрегионах встречаются следующие 68 таксонов мохообразных: *Ptilidium pulcherrimum* (Weber) Vain., *Aulacomnium palustre* (Hedw.) Schwägr., *Brachytheciastrum velutinum* (Hedw.) Ignatov & Huttunen, *Brachythecium albicans* (Hedw.) Bruch et al., *B. campestre* (Müll. Hal.)

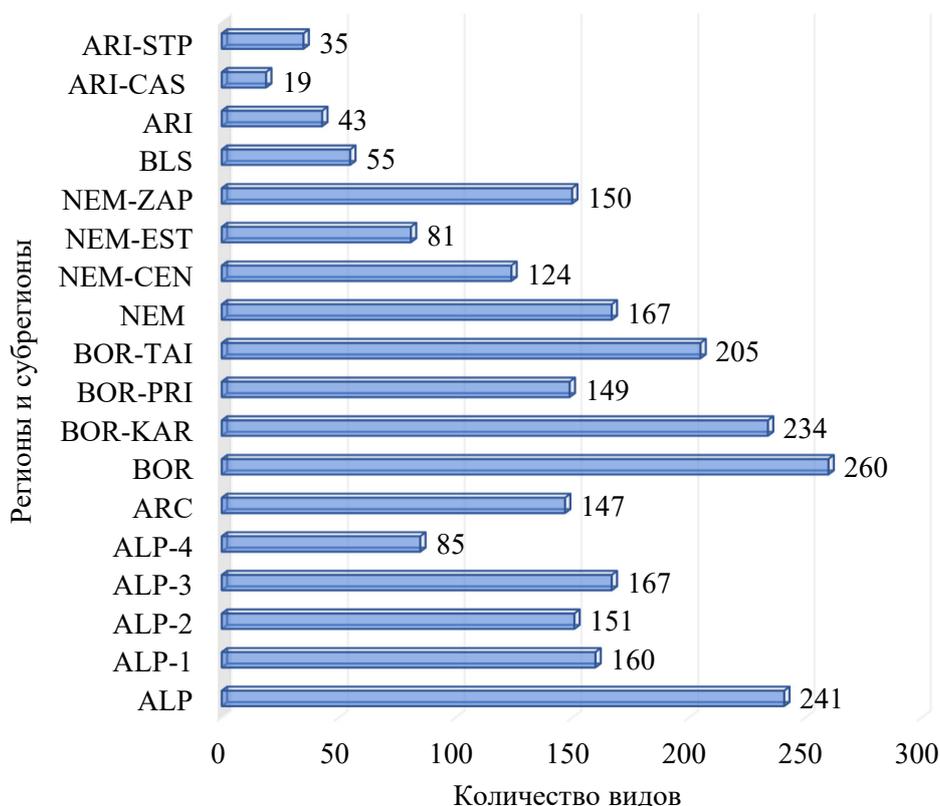


Рис. 4. Количественное распределение видов печеночников и антоцеротовых Восточной Европы по регионам и субрегионам

Fig. 4. Distribution of the number of species of liverworts and anthocerototes of Eastern Europe by regions and subregions

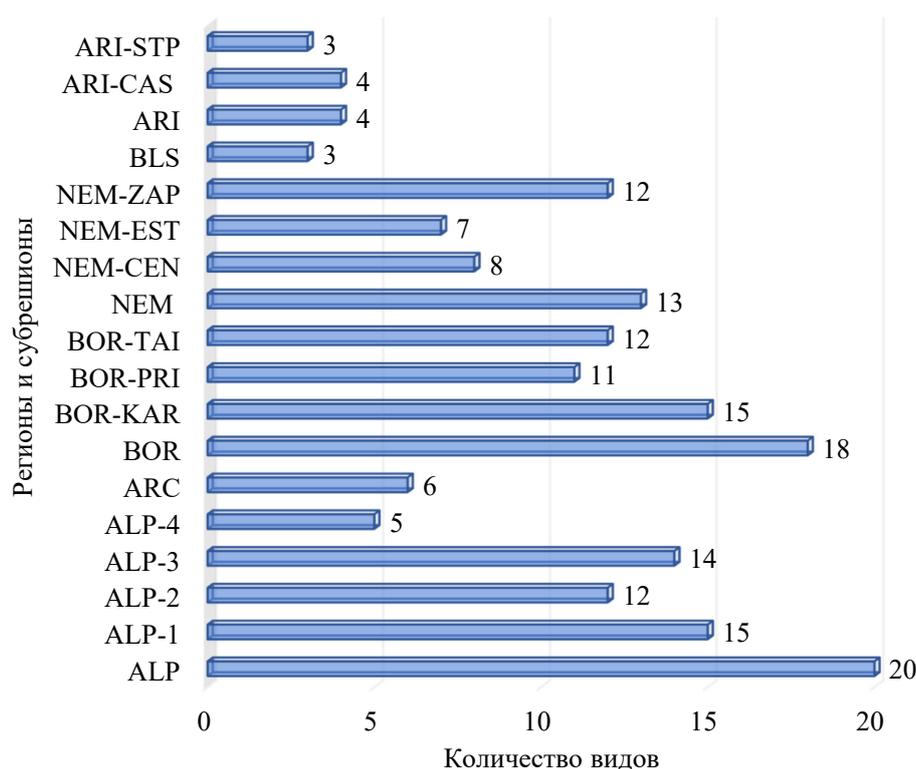


Рис. 5. Количественное распределение видов мхов Восточной Европы по регионам и субрегионам

Fig. 5. Distribution of the number of mosses of Eastern Europe by regions and subregions

Bruch et al., *B. rivulare* Bruch et al., *B. salebrosum* (F. Weber & D. Mohr) Bruch et al., *Bryoerythrophyllum recurvirostrum* (Hedw.) P. C. Chen, *Bryum caespiticium* Hedw., *Calliergon cordifolium* (Hedw.) Kindb., *Calliergonella lindbergii* (Mitt.) Hedenäs, *Campylium protensum* (Brid.) Kindb., *Campylidium sommerfeltii* (Myrin) Ochyra, *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Climacium dendroides* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr, *Dicranum montanum* Hedw., *D. polysetum* Sw., *D. scoparium* Hedw., *Didymodon rigidulus* Hedw., *Drepanocladus polygamus* (Schimp.) Hedenäs, *D. sendtneri* (Schimp. ex H. Müll.) Warnst., *Encalypta streptocarpa* Hedw., *Fontinalis antipyretica* Hedw., *Hylocomium splendens* (Hedw.) Bruch et al., *Leptobryum pyriforme* (Hedw.) Wilson, *Leptodictyum riparium* (Hedw.) Warnst., *Leskea polycarpa* Hedw., *Mnium marginatum* (Dicks.) P. Beauv., *M. stellare* Hedw., *Philonotis caespitosa* Jur., *P. fontana* (Hedw.) Brid., *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. J. Kop., *P. medium* (Bruch et al.) T. J. Kop., *Plagiothecium denticulatum* (Hedw.) Bruch et al., *P. laetum* Bruch et al., *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt., *Pogonatum urnigerum* (Hedw.) P. Beauv., *Pohlia cruda* (Hedw.) Lindb., *P. nutans* (Hedw.) Lindb., *P. wahlenbergii* (F. Weber & D. Mohr) A. L. Andrews, *Polytrichum commune* Hedw., *P. juniperinum* Hedw., *P. longisetum* Sw. ex Brid., *P. piliferum* Hedw., *Ptilium crista-castrensis* (Hedw.) De Not., *Ptychostomum capillare* (Hedw.) Holyoak & N. Pedersen, *P. pseudotriquetrum* (Hedw.) J. R. Spence & H. P. Ramsay ex Holyoak & N. Pedersen, *Pylasia polyantha* (Hedw.) Bruch et al., *Racomitrium canescens* (Hedw.) Brid., *Rhizomnium punctatum* (Hedw.) T. J. Kop., *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst., *Rhytidium rugosum* (Hedw.) Kindb., *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske, *Sarmentypnum exannulatum* (Bruch et al.) Hedenäs, *Schistidium apocarpum* (Hedw.) Bruch et al., *Sciuro-hypnum populeum* (Hedw.) Ignatov & Huttunen, *S. reflexum* (Starke) Ignatov & Huttunen, *S. starkei* (Brid.) Ignatov & Huttunen, *Sphagnum capilifolium* (Ehrh.) Hedw., *S. centrale* C. Jens., *S. girgensohnii* Russow, *S. magellanicum* Brid., *S. platyphyllum* (Lindb. ex Braithw.) Warnst., *S. squarrosum* Crome, *S. subsecundum* Nees, *S. teres* (Schimp.) Ångstr., *Syntrichia ruralis* (Hedw.) F. Weber & D. Mohr и *Tetraphis pellucida* Hedw.

Кроме того, во всех регионах (но не во всех субрегионах) присутствуют 66 видов: *Aneura pinguis* (L.) Dumort., *Barbilophozia barbata* (Schmidel ex Schreb.) Loeske, *Conocephalum conicum* (L.)

Dumort., *Lophocolea minor* Nees, *Marchantia polymorpha* L., *Abietinella abietina* (Hedw.) M. Fleisch., *Amblystegium serpens* (Hedw.) Bruch et al., *Amphidium mougeotii* (Bruch et al.) Schimp., *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Taylor, *Bartramia ithyphylla* Brid., *Brachythecium capillaceum* (F. Weber & D. Mohr) Giacom., *B. mildeanum* (Schimp.) Schimp., *Bryum argenteum* Hedw., *Buxbaumia aphylla* Hedw., *Calliergon giganteum* (Schimp.) Kindb., *Campylium stellatum* (Hedw.) C. E. O. Jensen, *Cratoneuron filicinum* (Hedw.) Spruce, *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt., *Dichodontium pellucidum* (Hedw.) Schimp., *Dicranella schreberiana* (Hedw.) Hilf. ex H. A. Crum & L. E. Anderson, *D. subulata* (Hedw.) Schimp., *D. varia* (Hedw.) Schimp., *Dicranum flexicaule* Brid., *D. fuscescens* Turner, *Distichium capillaceum* (Hedw.) Bruch et al., *Ditrichum flexicaule* (Schwägr.) Hampe, *Drepanocladus aduncus* (Hedw.) Warnst., *Encalypta ciliate* Hedw., *E. rhabdocarpa* Schwägr., *Eurhynchiastrum pulchellum* (Hedw.) Ignatov & Huttunen, *Fissidens adianthoides* Hedw., *F. bryoides* Hedw., *F. exilis* Hedw., *Funaria hygrometrica* Hedw., *Grimmia ovalis* (Hedw.) Lindb., *Hamatocaulis vernicosus* (Mitt.) Hedenäs., *Homalothecium sericeum* (Hedw.) Bruch et al., *Hygrohypnum luridum* (Hedw.) Jenn., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Neckera pennata* Hedw., *Orthotrichum anomalum* Hedw., *Palustriella decipiens* (De Not.) Ochyra, *Plagiomnium affine* (Blandow ex Funck) T. J. Kop., *P. cuspidatum* (Hedw.) T. J. Kop., *Plagiothecium cavifolium* (Brid.) Z. Iwats., *P. nemorale* (Mitt.) A. Jaeger, *Pseudoleskeella nervosa* (Brid.) Nyholm, *Ptychostomum pallescens* (Schleich. ex Schwägr.) J. R. Spence, *Rhodobryum roseum* (Hedw.) Limpr., *Rhytidiadelphus squarrosus* (Hedw.) Warnst., *Sphagnum angustifolium* C. E. O. Jensen ex Russow C. E. O. Jensen, *S. balticum* (Russow) C. E. O. Jensen, *S. compactum* Lam. & DC., *S. contortum* Schultz, *S. fallax* (H. Klinggr.) H. Klinggr., *S. flexuosum* Dozy & Molk., *S. rubellum* Wilson, *S. russowii* Warnst., *S. warnstorffii* Russow, *Timmia bavarica* Hessel., *T. megapolitana* Hedw., *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr., *Tortula hoppeana* (Schultz) Ochyra, *T. mucronifolia* Schwägr., *Trichostomum crispulum* Bruch, *Warnstorffia fluitans* (Hedw.) Loeske.

Только в одном субрегионе отмечено 162 вида. Их распределение представлено на рис. 6.

Максимальной видовой специфичностью в системе бриофлор Восточной Европы обладают горные субрегионы, особенно Кавказ (ALP-4). Здесь отмечено 33 бриофита (20 % от общего числа специфичных видов), встречающиеся только в этом субрегионе: *Frullania parvistipula* Steph., *Jubula hutchinsiae* subsp. *javanica* (Steph.) Verd., *Lophozia lantratoviae* Bakalin, *Nardia compressa* (Hook.) Gray, *Andreaea heinemannii* Hampe & Müll. Hal., *Bryoerythrophyllum rubrum* (Jur. ex Geh.) P. C. Chen, *Bryum caucasicum* (Schimp. ex Broth.) C. J. Cox & Hedd., *Didymodon cordatus* Jur., *D. perobtus* Broth., *Entodon challengerii* (Par.) Card., *Entosthodon handelii* (Schiffn.) Laz., *Eurhynchi-*

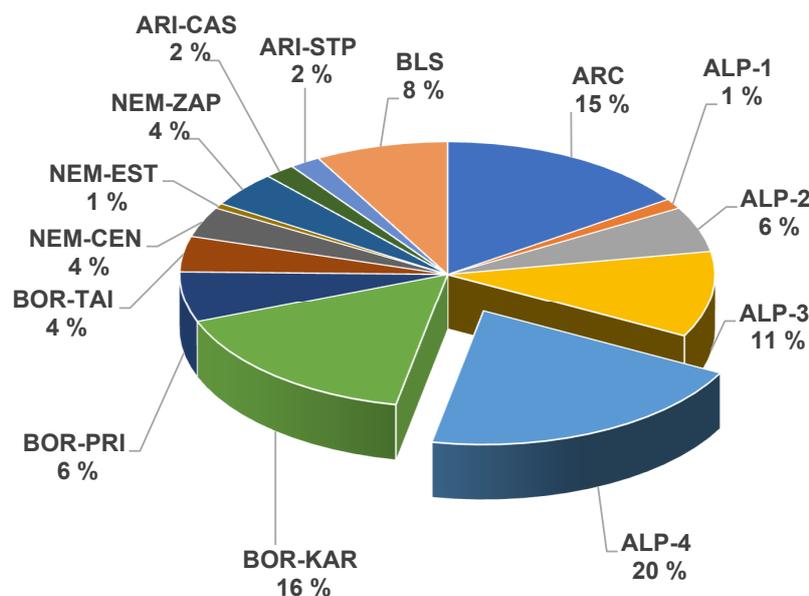


Рис. 6. Распределение видов мохообразных, встречающихся только в одном субрегионе Восточной Европы

Fig. 6. Distribution of species of bryophytes, found in only one subregion in Eastern Europe

adelphus eustegius (Besch.) Ignatov & Huttunen, *Hilpertia velenovskyi* (Schiffner) R. H. Zander, *Indusiella thianshanica* Broth. & Müll. Hal., *Jaffueliobryum latifolium* (Lindb. et Arnell) Thér., *Leptodontium flexifolium* (Dicks.) Hampe., *Lindbergia dagestanica* Ignatova & Ignatov, *L. grandiretis* (Lindb. ex Broth.) Ignatov & Ignatova, *Molendoa schliephackei* (Limpr. ex Schlieph.) R. H. Zander, *Oreas martiana* (Hoppe & Hornsch.) Brid., *Orthotrichum callistomum* Fisch.-Oost. ex Bruch et al., *O. vladikavkanum* Venturi, *Oxyrrhynchium pumilum* (Wilson) Loeske, *Philonotis rigida* Brid., *Pogonatum inflexum* (Lindb.) Sande Lac., *Schistidium marginale* H. H. Blom, Bedn.-Ochyra & Ochyra, *S. obscurum* H. H. Blom, Köckinger & Ignatova, *S. sinensiacarpum* (Müll. Hal.) Ochyra, *S. subflaccidum* (Kindb.) H. H. Blom, *S. succulentum* Ignatova & H. H. Blom, *Syntrichia papillosissima* (Copp.) Loeske, *S. pseudohandelii* (J. Fröhl.) S. Agnew & Vondr. и *Thamnobryum neckeroides* (Hook.) E. Lawton.

Также достаточно много (18) специфических видов в Карпатах (ALP-4): *Frullania jackii* Gottsche, *Gymnomitrium adustum* Nees emend. Limpr., *Metzgeria hamata* Lindb., *Porella baueri* (Schiffn.) C. E. O. Jensen, *Scapania helvetica* Gottsche, *Bryoerythrophyllum alpigenum* (Vent.) P. C. Chen, *Campylopus gracilis* (Mitt.) A. Jaeger, *Campylostelium strictum* Solms, *C. saxicola* (F. Weber et D. Mohr) Bruch et Schimp., *Ditrichum subulatum* Hampe, *Grimmia fuscolutea* Hook., *Homalia webbiana* (Mont.) Schimp., *Isothecium holtii* Kindb., *Syntrichia latifolia* (Bruch ex Hartm.) Huebener, *Tetradontium ovatum* (Funck) Schwägr., *Ulota rehmannii* Jur., *Zygodon dentatus* (Limpr.) Kartt.

Значительно меньше по сравнению с другими горными субрегионами специфических видов: 8 на Урале (ALP-2) (*Asterella saccata* (Wahlenb.) A. Evans, *Brachythecium buchananii* (Hook.) A. Jaeg, *Fontinalis hypnoides* var. *duriaei* (Schimp.) Kindb., *Hygrohypnum styriacum* (Limpr.) Broth., *Hylocomium splendens* var. *obtusifolium* (Geh.) Paris, *Molendoa tenuinervis* Limpr., *Orthotrichum pellucidum* Lindb., *Pohlia lutescens* (Limpr.) H. Lindb., *Timmia sibirica* Lindb. & Arnell) и всего 2 на западе Кольского полуострова (ALP-1) (*Scapania paradoxa* R. M. Schust. и *Ulota phylantha* Brid.).

Второе место (16 %) по видовой специфичности в системе бриофлор Восточной Европы занимает бореально-карельский таежный регион. Таких видов, произрастающих только в этом субрегионе, – 26 (*Aneura maxima* (Schiffn.) Steph., *A. mirabilis* (Malmb.) Wickett & Goffinet, *Barbilophozia sudetica* var. *anomala* (Schljakov) Schljakov s. str., *Cephaloziella stellulifera* (Taylor ex Spruce) Schiffn., *Fossombronina incurva* Lindb., *Gymnomitrium obtusum* Lindb., *Lophozia schusteriana* Schljakov, *Mesoptychia heterocolpos* var. *arctica* (S. W. Arnell) L. Söderstr. & Vána, *Scapania degenii* Schiffn. ex Muell. Frib., *S. glaucocephala* (Taylor) Austin, *S. sphaerifera* H. Buch & Tuom., *Archidium alternifolium* (Hedw.) Mitt., *Bryum muehlenbeckii* Bruch & Schimp., *Didymodon icmadophyllus* (Schimp. ex C. Muell.) Saito., *Encalypta brevipes* Schljak., *Gymnostomum boreale* Nyholm & Hedenäs, *Oncophorus virens* var. *serratus* (Bruch & W. P. Schimper) Braithwaite, *Orthotrichum urnigerum* Myrin, *Sanionia georgicouninata* (Müll. Hal.) Ochyra & Hedenäs, *Schistidium canadense* (Dupr.) Ignatova & H. H. Blom, *S. subjulaceum* H. H. Blom, *S. tenerum* (J. E. Zetterst.) Nyholm, *S. trichodon* var. *nutans* H. H. Blom, *S. umbrosum* (J. E. Zetterst.) H. H. Blom, *Sciuro-hypnum dovrense* (Limpr.) Draper & Hedenäs, *Trematodon brevicollis* Hornsch. Обращает на себя внимание повышенное представительство специфических печеночников в данном субрегионе.

На фоне бореально-карельского субрегиона специфичность других таежных субрегионов крайне низкая: 10 в прибалтийском (*Mannia sibirica* (Muell. Frib.) Frye & L. Clark, *Riccia warnstorffii* Limpr. ex Warnst., *Bryum blindii* Bruch & Schimp., *B. marratii* Wilson, *Hedwigia stellata* Hedenäs, *Microbryum floerkeanum* (Weber & D. Mohr) Schimper, *Orthotrichum rupestre* var. *sturmii* (Hoppe & Hornsch.) Jur., *Thamnobryum subserratum* (Hook. ex Harv.) Nog. & Z. Iwats., *Tortella rigens* Alberts., *Zygodon stirtoni* Schimp.) и 7 в таежном (*Cephaloziella elegans* (Heeg) Schiffn. *Frullania oakesiana* Austin, *Schistochilopsis hyperarctica* (R. M. Schust.) Konstant., *Bryoerythrophyllum latinervium* (Holmen) Fedosov & Ignatova, *Hypnum cupressiforme* var. *heseleri* (Ando & Higuchi) M. O. Hill., *Leucodon pendulus* Lindb., *Sciuro-hypnum tromsoeense* (Kaurin & Arnell) Draper & Hedenäs).

Третье место в Восточной Европе по присутствию специфических видов занимает арктический регион (15 %). Таких видов здесь 25: *Asterella lindenberiana* Corda ex Nees) Lindb., *Calycularia laxa* Lindb. et H. Arnell., *Gymnocolea fascinifera* Potemkin, *Isopaches alborividis* (R. M. Schust.) Schljakov, *Neoorthocaulis hyperboreus* (R. M. Schust.) L. Söderstr., De Roo & Hedd., *Radula prolifera*

Arnel, *Bartramia subulata* Bruch & Schimp., *Bryum bryoides* (R. Br.) Wijk & Margad, *Campylopus subulatus* Schimp. ex Milde, *Cinclidium latifolium* Lindb., *Cratoneuron curvicaule* G. Roth, *Drepanocladus arcticus* (R. S. Williams) Hedenäs, *D. brevifolius* (Lindb.) Warnst., *Hymenoloma mulhaceni* (Höhn.) Ochyra, *Orthotrichum holmenii* Lewinsky-Haapasaari, *Plagiothecium berggrenianum* Frisvoll, *Ptychostomum axel-blyttii* (H. Philib.) J. R. Spence, *Schistidium frissvollianum* H. H. Blom, *S. relictum* T. T. McIntosh, H. H. Blom & Ignatova, *Sphagnum lenense* Pohle, *S. orientale* L. I. Savicz, *S. perfoliatum* L. I. Savicz, *Stegonia latifolia* var. *pilifera* (Dicks.) Broth., *Tetraplodon paradoxus* (R. Br.) I. Hagen. *Tortella arctica* (Arnell) Crundw. & Nyholm.

Неморальные субрегионы достаточно бедны в этом отношении: неморально-центральный субрегион – 6 видов (*Bryum tenuisetum* Limpr., *Entodon cladorrhizans* (Hedw.) Müll. Hal., *Ephemerum recurvifolium* (Dicks.) Boulay., *Hypnum cupressiforme* var. *julaceum* Brid., *Tortula cuneifolia* (Dicks.) Turner., *T. ucrainica* (Laz.) R. H. Zander); неморально-западный субрегион – 7 (*Lejeunea patens* Lindb., *Barbula enderesii* Garov., *Funaria microstoma* Bruch ex Schimp., *Hypnum cupressiforme* var. *filiforme* Brid., *H. cupressiforme* var. *tectorum* Brid., *H. jutlandicum* Holmen & E. Warncke, *Orthodontium lineare* Schwägr.), неморально-восточный – всего 1 вид (*Frullania inflata* Gottsche).

Достаточно высокой специфичностью характеризуется черноморский субрегион (8 %, или 13 видов), что подтверждает его выделение в качестве отдельного субрегиона. Только здесь произрастают *Cephaloziella turneri* (Hook.) Muell. Frib., *Mesoptychia turbinata* (Raddi) L. Söderstr. & Váňa, *Scapania aspera* M. Bernet & Bernet, *Southbya tophacea* (Spruce) Spruce, *Targionia hypophylla* L., *Bryum gemmiparum* De Not., *Cinclidotus riparius* (Host ex Brid.) Arn., *Cryphaeae heteromalla* (Hedw.) D. Mohr, *Fissidens rivularis* (Spruce) Schimp, *Habrodon perpusillus* (De Not.) Lindb., *Neckera menziesii* Drumm, *Plasteurhynchium meridionale* (Bruch et al.) M. Fleisch., *Tortella flavovirens* (Bruch) Broth.

Совсем немного, по три специфических вида, отмечены в аридно-каспийском (*Didymodon asperifolius* (Mitt.) H. A. Crum et al., *Lindbergia brachyptera* (Mitt.) Kindb., *Myuroclada longiramea* (Müll. Hal.) M. Li, Y. F. Wang, M. S. Ignatov & S. Huttunen) и аридно-степном (*Brachytheciastrum olympicum* (Jur.) Vanderp., Ignatov, Huttunen & Goffinet, *Homalothecium aureum* (Spruce) H. Rob., *Tortula transcaspica* Broth.) субрегионах.

Кроме того, перечисленные ниже виды присутствуют только в одном из регионов (но в разных субрегионах):

альпийский регион: *Cynodontium bruntonii* (Sm.) Bruch et al., *C. gracilescens* (F. Weber & D. Mohr) Schimp., *Dicranum dispersum* Engelmark, *Encalypta longicolla* Bruch, *Molendoa hornschuchiana* (Hook.) Lindb. ex Limpr., *Orthotrichum scanicum* Gronvall, *Schistidium echinatum* Ignatova & H. H. Blom, *Tayloria serrata* (Hedw.) Bruch et al., *Tetradontium brownianum* (Dicks.) Schwägr.;

бореальный регион: *Cephaloziella integrima* (Lindb.) Warnst., *Chiloscyphus profundus* (Nees) J. J. Engel & R. M. Schust., *Scapania lingulata* H. Buch, *Aongstroemia longipes* (Sommerf.) Bruch et al., *Bryum oblongum* Lindb., *Cinclidotus danubicus* Schiffn. & Baumgartner, *Dicranella schreberiana* var. *robusta* (Braithw.) Crum & Anderson, *D. staphelina* H. Whitehouse, *Meesia hexasticha* (Funk) Bruch, *Orthotrichum pylaisii* Brid., *Schistidium confusum* H. H. Blom, *Sphagnum affine* Renauld & Cardot;

неморальный регион: *Campylopus flexuosus* (Hedw.) Brid., *Ephemerum minutissimum* Lindb.;

аридный регион: *Microbryum rectum* (With.) R. H. Zander, *Syntrichia caninervis* var. *astrakhanica* Ignatov, Ignatova & Suragina, *Tortula brevissima* Schiffn.

Заключение. Проведенный таксономический анализ бриофлористических комплексов Восточной Европы выявил специфический характер видового состава отдельных регионов, позволил охарактеризовать их своеобразие, обусловленное эколого-биологическими особенностями мохообразных, спецификой природных условий, историей формирования и взаимодействия природных экосистем. Выделенные специфические виды бриофитов для каждого региона могут рассматриваться как индикаторы и модельные объекты для мониторинговых исследований динамики видового разнообразия мохообразных и различных процессов в природных комплексах. Полученные данные могут также служить основой для охраны бриофитов путем формирования региональных красных книг с учетом статуса и распространения отдельных видов на территории Восточной Европы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Масловский, О. М. Эколого-географические особенности бриофлоры Беларуси в системе бриофлор Восточной Европы и вопросы охраны мохообразных / О. М. Масловский // Проблемы бриологии на рубеже веков : материалы междунар. совещания, посвящ. 90-летию со дня рождения Р. Н. Шлякова и И. И. Абрамова (Санкт-Петербург, 4–6 нояб. 2002 г.) / ред. А. Д. Потемкин. – СПб., 2002. – С. 43–45.
2. Atlas Florae Europaeae. Distribution of vascular plants in Europe / eds. J. Jalas, J. Suominen. – Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1972. – Vol. 1. – 121 p.
3. Ignatov, M. S. Check-list of mosses of the former USSR / M. S. Ignatov, O. M. Afonina // *Arctoa*. – 1992. – Vol. 1. – P. 1–85. <https://doi.org/10.15298/arctoa.01.01>
4. Check-list of mosses of East Europe and North Asia / M. S. Ignatov [et al.] // *Arctoa*. – 2006. – Vol. 15. – P. 1–130. <https://doi.org/10.15298/arctoa.15.01>
5. Konstantinova, N. A. Check list of the Hepaticae and Anthocerotae of the former USSR / N. A. Konstantinova, A. D. Potemkin, R. N. Schljakov // *Arctoa*. – 1992. – Vol. 1. – P. 87–127. <https://doi.org/10.15298/arctoa.01.02>
6. Рыковский, Г. Ф. Флора Беларуси. Мохообразные : в 2 т. / Г. Ф. Рыковский, О. М. Масловский. – Минск : Техналогія, 2004. – Т. 1 : *Andreaeopsida – Bryopsida*. – 439 с.
7. Рыковский, Г. Ф. Флора Беларуси. Мохообразные : в 2 т. / Г. Ф. Рыковский, О. М. Масловский. – Минск : Беларус. навука, 2009. – Т. 2 : *Hepaticopsida – Sphagnopsida*. – 213 с.
8. Бачурина, Г. Ф. Флора мохів Української РСР : у 4 вип. / Г. Ф. Бачурина, В. Н. Мельничук. – Київ : Наук. думка ; Академ-періодика, 1987–2003. Вип. 1. – 1987. – 180 с. ; Вип. 2. – 1988. – 180 с. ; Вип. 3. – 1989. – 176 с. ; Вип. 4. – 2003. – 255 с.
9. Бойко, М. Ф. Чекліст мохоподібних України / М. Ф. Бойко. – Херсон : Айлант, 2008. – 232 с.
10. Jukoniene, I. Lietuvos kiminiai irzaliuosios samanai / I. Jukoniene. – Vilnius : Botanikos instituto leidykla, 2003. – 402 p.
11. Аболинь, А. А. Листостебельные мхи Латвийской ССР / А. А. Аболинь. – Рига : Зинатне, 1965. – 331 с.
12. Āboliņa, A. A. Latvijas sūnu saraksts [List of bryophytes of Latvia] / A. A. Āboliņa // *Latvijas veģetācija*. – 2001. – Vol. 3. – P. 47–87.
13. Eesti sammalde m ää raja [Handbook of Estonian bryophytes] / N. Ingerpuu [et al.]. – Tartu : ERMÜ ZBI esti Loodusfoto, 1998. – 239 p.
14. Симонов, Г. П. Определение листостебельных мхов Молдавской ССР / Г. П. Симонов. – Кишинев : Штиинца, 1978. – 168 с.
15. Игнатов, М. С. Флора мхов Средней России : в 2 т. / М. С. Игнатов, Е. А. Игнатова. – М. : КМК, 2003–2004.
16. Потёмкин, А. Д. Печеночники и антоцеротовые России / А. Д. Потёмкин, Е. В. Софронова. – СПб. ; Якутск : Бостон-Спектр, 2009. – Т. 1. – 368 с.
17. Checklist of liverworts (Marchantiophyta) of Russia / N. A. Konstantinova [et al.] // *Arctoa*. – 2009. – Vol. 18. – P. 1–64. <https://doi.org/10.15298/arctoa.18.01>
18. Maslovsky, O. M. Atlas of rare and threatened bryophytes of Eastern Europe as candidates to new European Red List / O. M. Maslovsky. – Minsk : Belorusskaya nauka, 2017. – 101 p.
19. Biogeographic regions in Europe [Electronic resource] // European Environment Agency. – Mode of access: <https://www.arcgis.com/home/item.html?id=a1d1d13131c34d64ab3984ebbd921f7b>. – Date of access: 21.08.2021.
20. Rivas-Martínez, S. Biogeographic Map of Europe (2004, March 4) [Electronic resource] / S. Rivas-Martínez, A. Penas, T. E. Díaz. – Mode of access: https://www.globalbioclimatics.org/form/bg_map/index.htm. – Date of access: 21.08.2021.

References

1. Maslovsky O. M. Ecological-geographical features of Belarus bryoflora in system of bryofloras of East Europe and questions of protection of bryophytes. *Problemy briologii na rubezhe vekov: materialy mezhdunarodnogo soveshchaniya, posvyashchennogo 90-letiyu so dnya rozhdeniya Romana Nikolaevicha Shlyakova i Ivana Ivanovicha Abramova (Sankt-Peterburg, 4–6 noyabrya 2002 goda)* [Problems of bryology at the turn of the century: materials of the International meeting dedicated to the 90th anniversary of the birth of Roman Nikolaevich Shlyakov and Ivan Ivanovich Abramov (St. Petersburg, November 4–6, 2002)]. Saint Petersburg, 2002, pp. 43–45 (in Russian).
2. *Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe. Vol. 1.* Cambridge, Cambridge University Press, 1972. 121 p.
3. Ignatov M. S., Afonina O. M. Check-list of mosses of the former USSR. *Arctoa*, 1992, vol. 1, pp. 1–85. <https://doi.org/10.15298/arctoa.01.01>
4. Ignatov M. S., Afonina O. M., Ignatova E. A., Abolina A. A., Akatova T. V., Baisheva E. Z. [et al.]. Check-list of mosses of East Europe and North Asia. *Arctoa*, 2006, vol. 15, pp. 1–130. <https://doi.org/10.15298/arctoa.15.01>
5. Konstantinova N. A., Potemkin A. D., Schljakov R. N. Check list of the Hepaticae and Anthocerotae of the former USSR. *Arctoa*, 1992, vol. 1, pp. 87–127. <https://doi.org/10.15298/arctoa.01.02>
6. Rykovskii G. F., Maslovskii O. M. *Flora of Belarus. Bryophyta. Vol. 1. Andreaeopsida – Bryopsida*. Minsk, Tekhnologiya Publ., 2004. 439 p. (in Russian).
7. Rykovskii G. F., Maslovskii O. M. *Flora of Belarus. Bryophyta. Vol. 2. Hepaticopsida – Sphagnopsida*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2009. 213 p. (in Russian).
8. Bachurina G. F., Mel'nychuk V. N. *Flora of mosses of the Ukrainian SSR. 4 iss.* Kiev, Navukova Dumka Publ., Akadem-periodika Publ., 1987–2003 (in Russian).

9. Boiko M. F. *Checklist of mosses of Ukraine*. Kherson, Ailant Publ., 2008. 232 p. (in Russian).
10. Jukoniene I. *Lietuvos kiminai ir zaliosios samanės*. Vilnius, Botanikos instituto leidykla Publ., 2003. 402 p.
11. Abolin' A. A. *Leaf mosses of the Latvian SSR*. Riga, Zinatne Publ., 1965. 331 p. (in Russian).
12. Āboliņa A. A. Latvijas sūnu saraksts [List of bryophytes of Latvia]. *Latvijas veģetācija*, 2001, vol. 3, pp. 47–87.
13. Ingerpuu N., Kalda A., Kannukene L., Krall H., Leis M., Vellak K. *Eesti sammalde m ää raja [Handbook of Estonian bryophytes]*. Tartu, ERMÜ ZBI esti Loodusfoto Publ., 1998. 239 p.
14. Simonov G. P. *Determination of leafy mosses of the Moldavian SSR*. Kishinev, Shtiintsa Publ., 1978. 168 p. (in Russian).
15. Ignatov M. S., Ignatova E. A. *Flora of mosses of Central Russia. 2 vol.* Moscow, KMK Publ., 2003–2004 (in Russian).
16. Potemkin A. D., Sofronova E. V. *Liverworts and anthocerotēs of Russia. Vol. 1.* St. Petersburg, Yakutsk, Boston-Spektr Publ., 2009. 368 p. (in Russian).
17. Konstantinova N. A., Bakalin V. A., Andrejeva E. N., Bezgodov A. G., Borovichev E. A., Dulin M. V., Mamontov Y. S. Checklist of liverworts (Marchantiophyta) of Russia. *Arctoa*, 2009, vol. 18, pp. 1–64. <https://doi.org/10.15298/arctoa.18.01>
18. Maslovsky O. M. *Atlas of rare and threatened bryophytes of Eastern Europe as candidates to new European Red List*. Minsk, Belorusskaya nauka Publ., 2017. 101 p.
19. Biogeographic regions in Europe. *European Environment Agency*. Available at: <https://www.arcgis.com/home/item.html?id=a1d1d13131c34d64ab3984ebbd921f7b> (accessed 21.08.2021).
20. Rivas-Martínez S., Penas A., Díaz T. E. *Biogeographic Map of Europe (2004, March 4)*. Available at: https://www.globalbioclimatics.org/form/bg_map/index.htm (accessed 21.08.2021).

Информация об авторе

Масловский Олег Мечиславович – канд. биол. наук, заведующий сектором. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oleg.maslovsky@tut.by

Information about the author

Oleg M. Maslovsky – Ph. D. (Biol.), Head of the Sector. 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: oleg.maslovsky@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 616.24-008.4:578.835.1:578.56

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-444-452>

Поступила в редакцию 09.04.2021

Received 09.04.2021

Н. В. Поклонская¹, Т. В. Амвросьева¹, Ю. А. Шилова¹, Е. П. Кишкурно²

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь,

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЭНТЕРОВИРУСОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕСПИРАТОРНЫМИ ФОРМАМИ ИНФЕКЦИИ

Аннотация. Генетическая вариабельность энтеровирусов (ЭВ) лежит в основе многообразия клинических форм вызываемых ими заболеваний. Целью настоящего исследования было установление генетического разнообразия ЭВ, вызвавших острую респираторную инфекцию (ОРИ) в 2016–2019 гг. Биологический материал получен от 203 пациентов с различными формами ОРИ. Детекцию ЭВ осуществляли в ОТ-ПЦР с последующим секвенированием гена основного капсидного белка и филогенетической реконструкцией. РНК ЭВ обнаружена в 34,4 % образцов, чаще всего у детей 1–6 лет (53,1–54,8 %). Вирусы Коксаки В встречались у пациентов с респираторной энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) достоверно чаще, чем другие ЭВ, доминирующими серотипами были Коксаки В4, В5. Несмотря на значительное генетическое многообразие ЭВ, идентифицированных у пациентов с ОРИ (три генетические линии Коксаки В5, два генотипа Коксаки В2, один генотип Коксаки В3, три геноварианта Коксаки В4, один геновариант Коксаки В1), их связь с формированием именно респираторной формы ЭВИ не доказана.

Высокий уровень генетической изменчивости ЭВ диктует необходимость регулярного молекулярно-эпидемиологического мониторинга возбудителей для своевременной идентификации новых генетических вариантов и оценки их эпидемического потенциала.

Ключевые слова: энтеровирус, острая респираторная инфекция, молекулярная эпидемиология, генетическое разнообразие, молекулярное типирование

Для цитирования: Генетическое разнообразие энтеровирусов у пациентов с респираторными формами инфекции / Н. В. Поклонская [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 444–452. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-444-452>

Natalia V. Paklonskaya¹, Tamara V. Amvrosieva¹, Yuliya A. Shilova¹, Elena P. Kishkurno²

¹Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

GENETIC DIVERSITY OF ENTEROVIRUSES IN PATIENTS WITH RESPIRATORY INFECTION

Abstract. Enterovirus genetic variability underlies the variety of clinical forms of diseases they cause. The aim of the presented study was to establish the genetic diversity of enteroviruses (EVs) that caused acute respiratory infection (ARI) in 2016–2019. Biological samples were obtained from 203 patients with various forms of ARI, EV detection was carried out by RT-PCR, followed by sequencing of the main capsid protein gene and phylogenetic reconstruction. EV RNA was detected in 34.4 % of samples, most often in children aged 1–6 years (53.1–54.8 %). Coxsackieviruses B were found in patients with respiratory enterovirus infection (EVI) significantly more often than other EVs, the dominant serotypes were Coxsackievirus B4, B5. Despite the significant genetic diversity of EVs identified in patients with ARI (three genetic lines of Coxsackievirus B5, two genotypes of Coxsackievirus B2, one genotype of Coxsackievirus B3, three genovariant Coxsackievirus B4, one genovariant Coxsackievirus B1), there is no evidence of their connection with the formation of the respiratory form of EVI.

The high level of genetic variability of EVs requires regular molecular-epidemiological surveillance for the identification of emerging genetic variants and assessment of their epidemic potential.

Keywords: enterovirus, acute respiratory infection, molecular epidemiology, genetic diversity, molecular typing

For citation: Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Shilova Yu. A., Kishkurno E. P. Genetic diversity of enteroviruses in patients with respiratory infection. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 444–452 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-444-452>

Введение. Энтеровирусы (род *Enterovirus*, сем. *Picornaviridae*) объединяют более 100 различных серотипов вирусов, патогенных для человека [1]. Они способны использовать большое количество различных рецепторов для проникновения в клетку, что лежит в основе их тропности к широкому кругу органов и тканей и, соответственно, способности вызывать различные клини-

ческие формы инфекции – от гастроэнтерита до миокардита. Несмотря на то что местом первичной репликации энтеровирусов (ЭВ), как правило, считается кишечник, респираторные формы энтеровирусной инфекции (ЭВИ) распространены достаточно широко. Энтеровирусный везикулярный фарингит является одной из основных клинических форм заболевания, хотя другие респираторные проявления ЭВИ также хорошо известны [2].

В условиях появления нового коронавируса SARS-CoV-2 и вызванной им пандемии особую значимость приобретает дифференциальная этиологическая диагностика респираторных инфекций, а также оценка вклада различных вирусов в их формирование и вероятности появления сочетанных форм различных респираторных вирусных заболеваний.

Лабораторный контроль за ЭВИ, включающий молекулярное типирование циркулирующих ЭВ и соответствующие молекулярно-эпидемиологические исследования, проводятся в Беларуси уже более 10 лет. Накоплено значительное количество информации о молекулярных характеристиках энтеровирусных возбудителей, сформирована база данных, содержащая нуклеотидные последовательности доминирующих серотипов. Вместе с тем в настоящее время недостаточно полно изучен вопрос о генотипическом пейзаже ЭВ как этиологических агентов респираторных форм инфекции, которые вносят существенный вклад в формирование энтеровирусной заболеваемости в целом по стране.

Цель настоящей работы – изучение генетического разнообразия циркулирующих на территории Республики Беларусь энтеровирусов, вызвавших респираторную инфекцию в 2016–2019 гг.

Материалы и методы исследования. В исследования включены образцы биологического материала (мазки из носа и зева, пробы сыворотки крови и фекалий) пациентов с различными формами острой респираторной инфекции (ОРИ), в отношении которых проводилась дифференциальная диагностика, направленная на обнаружение ЭВ. Всего исследован 251 образец, в том числе в 2016 г. – 58 проб, в 2017 г. – 90, в 2018 г. – 48, в 2019 г. – 60 проб. Биологический материал был получен от 203 пациентов с внебольничной пневмонией, острым бронхитом, везикулярным фарингитом и тонзиллитом, ОРИ неуточненными, в том числе с диарейным синдромом, экзантемой, «малой болезнью», синуситом.

Диагностику ЭВИ проводили методом ОТ-ПЦР с детекцией результатов реакции в режиме реального времени с использованием наборов «Тест-система для выявления энтеровирусов методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов реакции «ЭВ-ПЦР». РНК из проб выделяли с помощью набора «НК-экстра» (все производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь).

Определение нуклеотидной последовательности полного гена *VPI* или его фрагмента осуществляли с несколькими комплектами праймеров в условиях, описанных ранее [3]. Секвенирование ДНК проводили методом терминации цепи с последующим анализом на ДНК-анализаторе SEQ8000.

Компьютерный анализ последовательностей (множественное выравнивание, определение эволюционных расстояний, филогенетическую реконструкцию и определение достоверности ее топологии) выполняли с помощью программного продукта MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis) версии 7.0 [4].

Результаты и их обсуждение. В исследованиях методом ОТ-ПЦР РНК ЭВ была выявлена в 34,4 % образцов биологического материала, полученного от пациентов с респираторными инфекциями. Среди обследованных большинство (178 из 203 человек) составляли дети. Распределение пациентов по возрастным группам и доля ЭВ-положительных в каждой из них представлены на рис. 1.

Максимальная доля пациентов, у которых диагностирована ОРИ энтеровирусной этиологии, была зарегистрирована в группах детей 1–3 и 4–6 лет (54,8 и 53,1 % соответственно). В старших возрастных группах ЭВ-этиология заболевания регистрировалась существенно реже.

Частота выявления ЭВ в биологическом материале пациентов с ОРИ в разные годы колебалась в пределах 20,7–38,0 % (рис. 2). Максимальной она была в 2017 и 2019 гг. (36,7 и 38 % соответственно), тогда как в 2016 и 2018 гг. этот показатель составил 20,7 и 29,2 % соответственно.

Существуют многочисленные литературные данные, свидетельствующие о том, что клинические формы ЭВИ связаны с определенными серотипами ЭВ. С 2016 по 2019 г. на территории

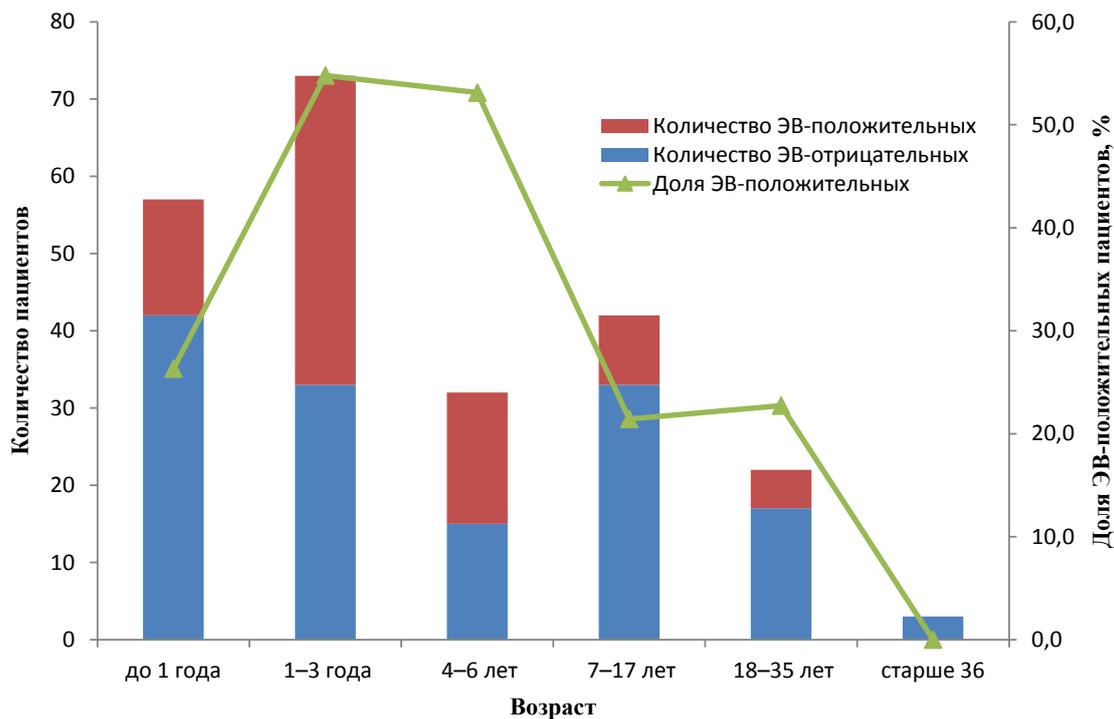


Рис. 1. Распределение пациентов по возрастным группам и доля ЭВ-положительных в каждой группе
 Fig. 1. Distribution of patients by age group and the proportion of EV-positive in each group

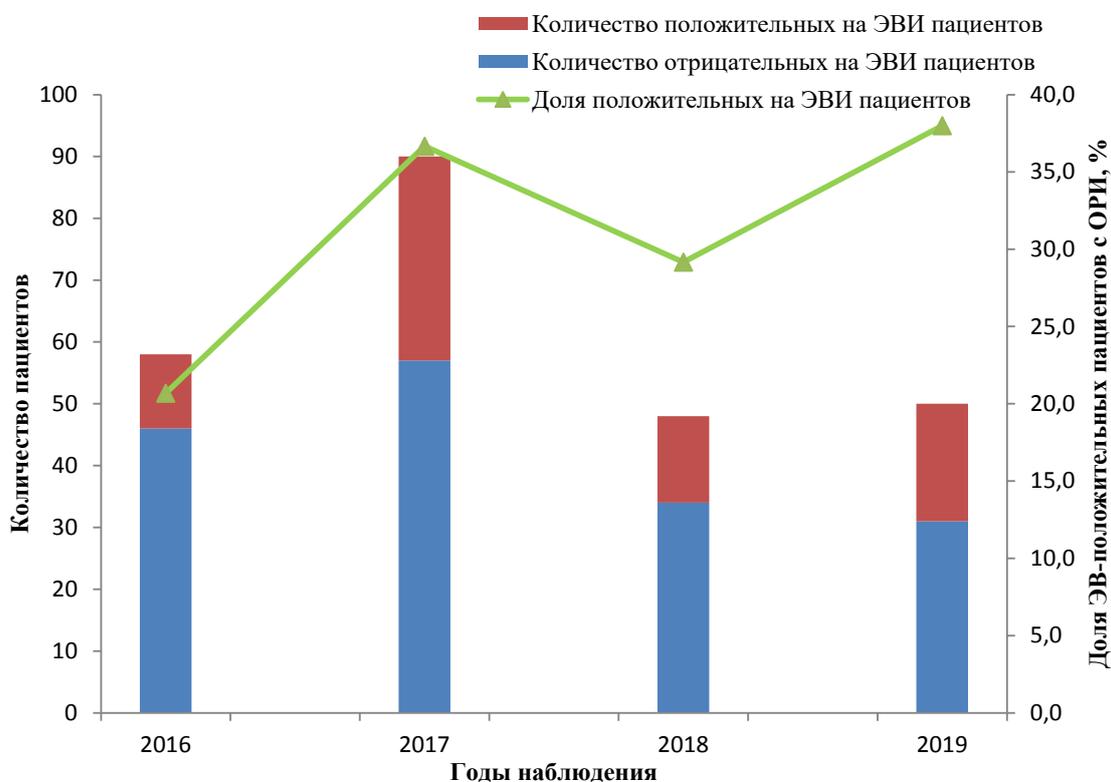


Рис. 2. Количество и доля положительных в отношении ЭВ проб биологического материала пациентов с ОРИ в разные годы наблюдения
 Fig. 2. The number and proportion of biological samples from EV-positive ARI patients in different years of observation

Fig. 2. The number and proportion of biological samples from EV-positive ARI patients in different years of observation

Беларусі всего было типировано 262 ЭВ. У пациентов с респираторными формами ЭВИ идентифицировано 59 ЭВ, принадлежащих к 14 различным серотипам: Коксаки А2, 5, 6, Коксаки В1–В5, ЕСНО 3, 6, 13, 15, 21, 25, 30 (рис. 3). Максимальная доля идентифицированных ЭВ принадлежала серотипам Коксаки В1–В5 – 71,43 % (95 % ДИ: 49,75–99,34 %), вирусы ЕСНО составляли 20,41 % (95 % ДИ: 9,79–37,53 %), вирусы Коксаки А – 10,2 % (95 % ДИ: 6,89–13,61 %). Как следует из этих данных, вирусы Коксаки В встречались у пациентов с респираторными ЭВИ достоверно чаще, чем другие ЭВ. Для подтверждения гипотезы о том, что серотипы Коксаки В1–В5 чаще связаны с развитием респираторных ЭВИ, полученные результаты сравнили с частотой выявления различных групп ЭВ у пациентов с неврологическими ЭВИ в тот же период времени (2016–2019 гг.). Полученные результаты показали, что у пациентов с неврологическими формами ЭВИ вирусы Коксаки В1–В5 составили 25 % (95 % ДИ: 12,92–43,67 %) от всех идентифицированных, а вирусы ЕСНО – 75 % (95 % ДИ 52,53–100 %).

Спектр и частота выявления отдельных серотипов ЭВИ у пациентов с респираторными и неврологическими формами ЭВИ отличались весьма существенно (рис. 4). Максимальные отличия были зарегистрированы по частоте выявления вирусов Коксаки В4 и В5 – они чаще детектировались у пациентов с респираторными ЭВИ (14,0 и 32,0 % соответственно), чем с нейроинфекциями (2,04 и 18,37 % соответственно). У последних же, наоборот, значительно чаще выявлялись ЕСНО 6, 9, 16 и 30.

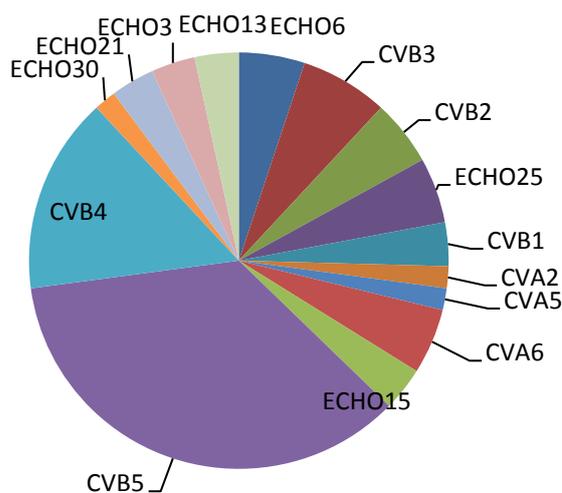


Рис. 3. Спектр энтеровирусов, идентифицированных у пациентов с респираторной инфекцией

Fig. 3. Spectrum of enteroviruses identified in patients with respiratory infection

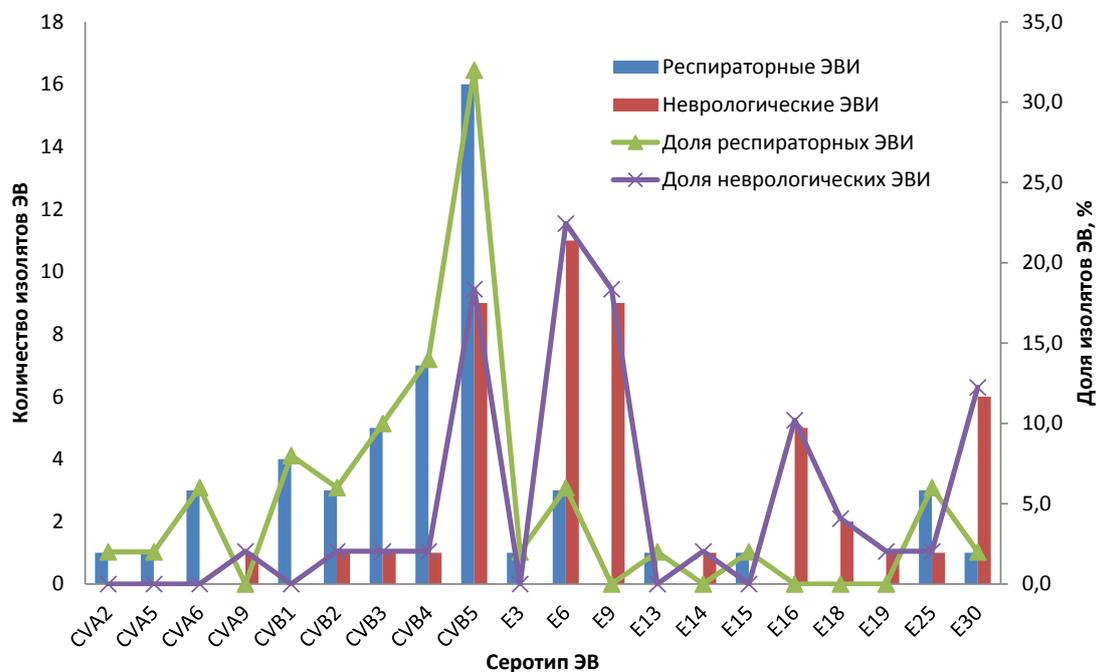


Рис. 4. Спектр и количество различных ЭВ, идентифицированных у пациентов с респираторными и неврологическими формами ЭВИ в 2016–2019 гг.

Fig. 4. The spectrum and number of different EVs identified in patients with respiratory and neurological forms of EVI in 2016–2019

В связи с тем что полученные данные демонстрировали достоверно более частую встречаемость вирусов Коксаки В у пациентов с респираторными формами ЭВИ, в отношении вирусов этой группы был проведен филогенетический анализ. В анализ были включены нуклеотидные последовательности идентифицированных в разные годы в Республике Беларусь 190 ЭВ, принадлежащих серотипам Коксаки В1–В5, 6 прототипных штаммов вирусов Коксаки В1–В5 (для серотипа Коксаки В5 были использованы 2 прототипных штамма разных геногрупп вирусов – Коксаки В5А и Коксаки В5В), 6 серотипов референс-штаммов Коксаки В5 из базы данных GenBank.

Филогенетическую реконструкцию осуществляли методом максимального правдоподобия (ML) с использованием модели эволюции Tamura-Nei 1993 (TN93), статистическую достоверность топологии оценивали методом бутстреппинга (500 псевдореплик). Полученное филогенетическое древо представлено на рис. 5.

Максимальное количество ЭВ, идентифицированных у пациентов с респираторными инфекциями, принадлежало к серотипу Коксаки В5. Данный серотип в целом был доминирующим на территории нашей страны за весь период наблюдения. Для филогенетической реконструкции были использованы нуклеотидные последовательности 148 изолятов, выделенных в Беларуси с 1999 по 2019 г., в том числе 12 изолятов от пациентов с респираторной инфекцией. Согласно ранее полученным нами и другими исследователями данным [5, 6], циркулирующие в настоящее время вирусы Коксаки В5 принадлежат к двум геногруппам – Коксаки В5А и Коксаки В5В, которые имеют два разных прототипных штамма – CVB5 Faulkner 1956 и CVB5 Peterborough 1954 соответственно. Внутри этих геногрупп идентифицированы субгеногруппы, также имеющие глобальное распространение, внутри которых выделяются отдельные генетические линии вируса [6]. Всего за период с 1998 по 2019 г. в Беларуси идентифицировано 11 генетических линий в составе пяти субгеногрупп вируса Коксаки В5 (см. таблицу). Выявленные у пациентов с ОРВИ в 2016–2019 гг. вирусы Коксаки В5 принадлежали к субгеногруппам CVB5-А3 (генетическая линия CVB5-А3f, ранее не идентифицирована в других странах), CVB5-А4 (генетическая линия CVB5-А4с), CVB5-В2 (генетическая линия CVB5-В2g). Изоляты этих же генетических линий были идентифицированы и у пациентов с другими (неврологическими, кишечными) формами ЭВИ.

В отношении вирусов Коксаки В2 и В3 ранее также были проведены исследования, позволяющие идентифицировать отдельные генотипы внутри серотипа вируса, которые характеризуются глобальным распространением [7, 8]. С учетом результатов этих исследований в филогенетическую реконструкцию были включены полученные из базы данных GenBank референсные нуклеотидные последовательности известных генотипов вирусов. По результатам филогенетической реконструкции установлено, что в Беларуси регистрировалась циркуляция следующих генотипов вируса Коксаки В2: CVB2-GII (2017 г.), CVB2-GIII (2018 г.) и CVB2-GVI (2016–2017 гг.). При этом респираторные формы ЭВИ вызывали CVB2-GIII и CVB2-GVI. Последний обнаруживался и у пациентов с другими формами ЭВИ, тогда как CVB2-GIII был идентифицирован только у одного пациента с респираторной ЭВИ, поэтому сделать вывод об участии в развитии других форм не представляется возможным.

Вирусы Коксаки В3, циркуляция которых имела место в Беларуси, принадлежали к трем ранее идентифицированным генотипам – CVB3-D (2014 г.), CVB3-E (2015–2017 гг.) и CVB3-H (2018 г.). Все вирусы, обнаруженные у пациентов с респираторными ЭВИ, принадлежали к генотипу CVB3-E. К этому же генотипу относились вирусы, идентифицированные в тот же период у пациентов с другими (не респираторными) формами ЭВИ.

Периоды циркуляции различных генетических линий/генотипов вирусов Коксаки В5, В3 и В2 представлены в таблице.

В отношении вирусов Коксаки В4 и В1 глобальные исследования молекулярной эпидемиологии и филодинамики ранее не проводились. Поэтому в филогенетическую реконструкцию нами были включены только нуклеотидные последовательности изолятов, циркулировавших в Беларуси, отдельные генотипы и генетические линии этих серотипов не выделялись, а анализ проводился на основании достоверного группирования на дендрограмме и выделения на этой основе геновариантов вируса.

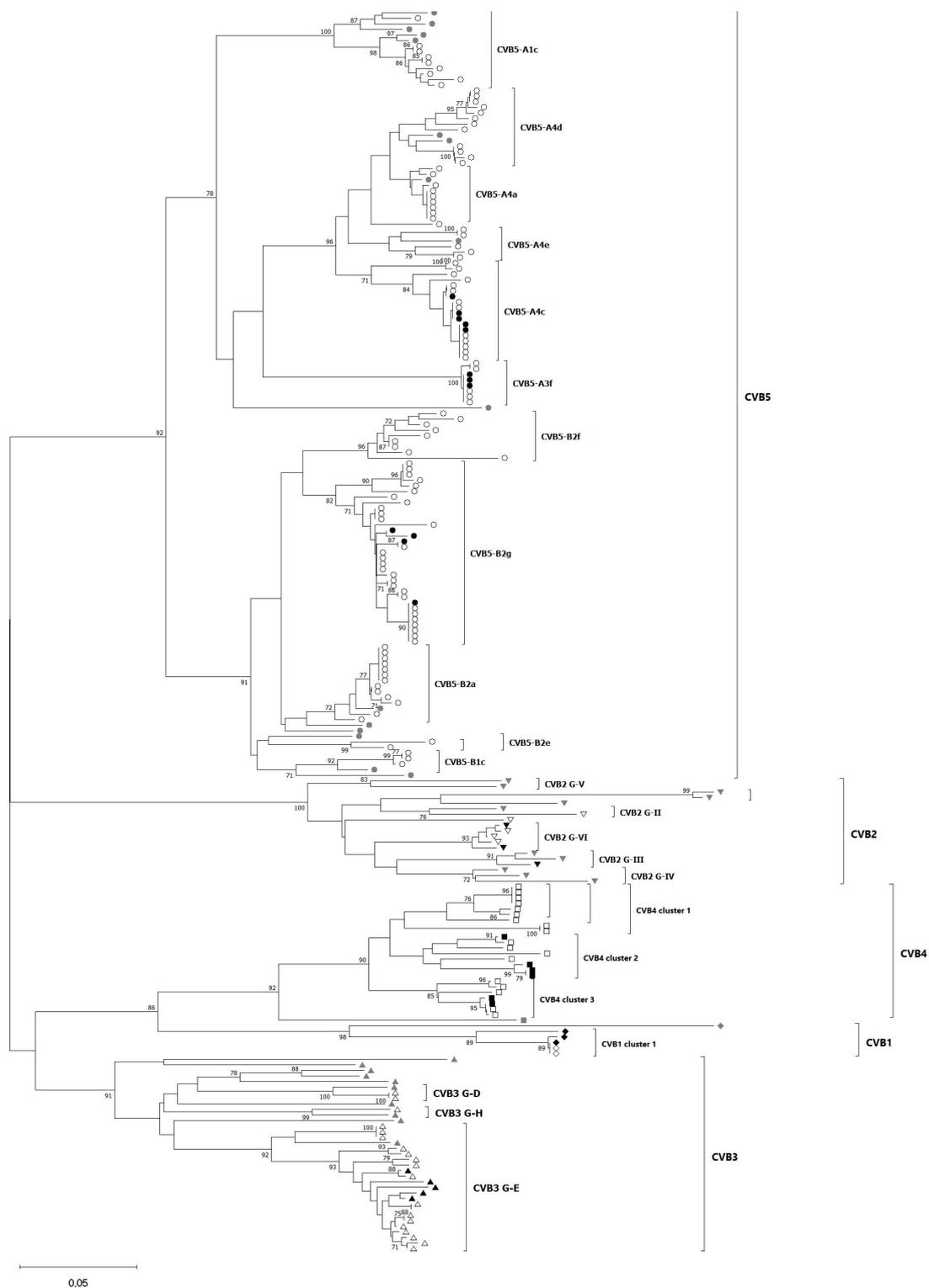


Рис. 5. Филогенетическая реконструкция вирусов Коксаки В1–В5 (♦ – В1, ▼ – В2, ▲ – В3, ■ – В4, ● – В5; фигуры черного цвета – нуклеотидные последовательности изолятов от пациентов с респираторными ЭВИ, белого цвета – с другими (не респираторными) ЭВИ, серого цвета – референсные последовательности из GenBank) обнаруженных у пациентов с респираторными ЭВИ. Цифры в узлах дерева – значения бутстрепинга, слева в углу – шкала эволюционного расстояния (нуклеотидных замен/сайт)

Fig. 5. Phylogenetic reconstruction of Coxsackievirus B1–B5 (♦ – B1, ▼ – B2, ▲ – B3, ■ – B4, ● – B5; black figures – nucleotide sequences of isolates from patients with respiratory EVI, white – with other (non-respiratory) EVI, gray – reference sequences from GenBank) found in patients with respiratory EVI. The numbers in the nodes of the tree are bootstrap values. The scale of evolutionary distance (nucleotide substitutions/site) is on the left in the corner

Характеристика различных генетических линий и генотипов вирусов Коксаки В5, В3 и В2
Characteristics of various genetic lines and genotypes of Coxsackie viruses В5, В3 and В2

Генетическая линия/ генотип	Годы циркуляции вирусов в Беларуси	Респираторные формы ЭВИ	Другие формы ЭВИ
CVB5-A1c	1998, 2006	Нд	+
CVB5-A3f	2017	+	+
CVB5-A4a	2005, 2015–2016	–	+
CVB5-A4c	2012, 2018	+	+
CVB5-A4d	2012–2015	Нд	+
CVB5-A4e	2017–2018	–	+
CVB5-B1c	2003–2004	Нд	+
CVB5-B2a	2006–2007, 2017	–	+
CVB5-B2e	2015–2017	–	+
CVB5-B2f	2012, 2017	–	+
CVB5-B2g	2016–2019	+	+
CVB2-GII	2017	–	+
CVB2-GIII	2018	+	–
CVB2-GVI	2016–2017	+	+
CVB3-D	2014	Нд	+
CVB3-H	2016	–	+
CVB3-E	2014–2017	+	+

Согласно полученным данным, вирусы Коксаки В4 формировали 5 достоверных филогенетических кластеров на дендрограмме, 3 из которых включали вирусы, выделенные от пациентов с респираторными ЭВИ. В состав всех этих кластеров входили также вирусы, выделенные от пациентов с другими формами ЭВИ. Вирусы Коксаки В1 на дендрограмме группировались в составе кластера 1, в который входили вирусы, выявленные у пациентов как с респираторными, так и с другими формами ЭВИ.

Таким образом, по результатам филогенетической реконструкции можно заключить, что респираторные формы ЭВИ не являются фенотипической особенностью, характерной для отдельных геновариантов исследуемых вирусов Коксаки В1–В5. Большинство идентифицированных в Беларуси генотипов и геновариантов ЭВ включали вирусы, выявленные у пациентов как с респираторными, так и с другими формами ЭВИ.

В Республике Беларусь, как и в других странах, где осуществляется молекулярно-эпидемиологический мониторинг ЭВИ, основное внимание, как правило, уделяется идентификации возбудителей неврологических, а также некоторых других, наиболее тяжелых форм инфекции. При этом, как показывает ситуация последних лет, появление новых этиологических агентов респираторных инфекций может представлять беспрецедентную угрозу человечеству в связи с легкостью и быстротой их распространения и малой эффективностью профилактических мер.

В настоящей работе проведен анализ полученных в течение последних 4 лет данных о молекулярных характеристиках ЭВ, которые были идентифицированы у пациентов с респираторными формами ЭВИ. Способность ЭВ вызывать гриппоподобные заболевания, сопровождающиеся симптомами респираторной инфекции, давно известна. Герпангина (энтеровирусный фарингит) является одним из наиболее часто регистрируемых клинических проявлений ЭВИ. Чаще всего ее вызывают вирусы Коксаки А2, А5, А6 [9]. В 2014 г. в США была зарегистрирована вспышка тяжелого респираторного заболевания, вызванного ЭВ D68 [10]. Учитывая высокую генетическую вариабельность ЭВ, способную приводить к появлению новых геновариантов вирусов с измененными биологическими свойствами, изучение роли ЭВ в формировании заболеваемости респираторными инфекциями представляется достаточно актуальным.

Результаты проведенных исследований охватывают молекулярно-эпидемиологические данные с 2016 по 2019 г. За этот период среди взятых у пациентов с ОРВИ проб доля положительных на ЭВ составила 34,4 %. По результатам аналогичных исследований, проведенных в других

странах, ЭВ обнаруживались у 20,4 % детей, реже – у взрослых пациентов с ОРИ [11, 12]. Более высокая доля ЭВ-положительных проб в наших исследованиях может быть обусловлена тем, что большинство биологического материала поступало в летне-осенние месяцы, т. е. в период пика активности циркуляции ЭВ и эпидемиологического спада заболеваемости ОРВИ, вызванными вирусами гриппа, парагриппа, РС-вирусом и другими традиционными возбудителями. Интересно, что максимальная доля ЭВ-положительных проб была получена у детей в возрасте 1–3 лет.

Анализ серотипов ЭВ, которые были идентифицированы у пациентов с респираторными инфекциями, выявил доминирование среди них вирусов Коксаки В (71,43 %), вирусы ЕСНО и Коксаки А детектировались достоверно реже (20,41 и 10,2 % соответственно). Сравнение спектра энтеровирусных возбудителей респираторных и нейроинфекций показало, что вирусы Коксаки В достоверно чаще выявлялись у пациентов с респираторными ЭВИ, тогда как среди пациентов с нейроинфекциями преобладали вирусы ЕСНО. Эти данные согласуются с результатами зарубежных авторов, свидетельствующими о преобладании вирусов Коксаки В у пациентов с респираторными формами ЭВИ [12]. Идентифицированные нами вирусы Коксаки А принадлежали к серотипам Коксаки А2, А5 и А6, которые ассоциируют с развитием везикулярного фарингита (герпангины) [9].

Результаты филогенетического анализа показали отсутствие уникальных генотипов и геновариантов, вызывающих преимущественно респираторные ЭВИ: вирусы, выделенные у пациентов с ОРВИ и другими клиническими формами ЭВИ, группировались в составе одних и тех же кластеров.

Заключение. Результаты исследований свидетельствуют о том, что ЭВ составляют значительную часть возбудителей респираторных инфекций, которая может достигать до 50–60 % у детей дошкольного возраста. В 2016–2019 гг. в Беларуси среди возбудителей респираторных ЭВИ преобладали вирусы Коксаки В (71,43 %), а доминирующим этиологическим агентом был Коксаки В5. Несмотря на чрезвычайное генетическое многообразие ЭВ, идентифицированных у пациентов с ОРИ (три генетические линии Коксаки В5, два генотипа Коксаки В2, один генотип Коксаки В3, три геноварианта Коксаки В4, один геновариант Коксаки В1), убедительные доказательства их связи с формированием именно респираторной формы ЭВИ в нашем исследовании не получены.

Список использованных источников

1. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses / P. Simmonds [et al.] // *Arch. Virol.* – 2020. – Vol. 165, N 6. – P. 1515. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04558-x>
2. Muehlenbachs, A. Tissue tropism, pathology and pathogenesis of enterovirus infection / A. Muehlenbachs, J. Bhanagar, S. Zaki // *J. Pathol.* – 2015. – Vol. 235, N 2. – P. 217–228. <https://doi.org/10.1002/path.4438>
3. Молекулярная эпидемиология энтеровирусов, вызывающих тяжелые неврологические формы инфекции / Н. В. Поклонская [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2017. – № 3. – С. 29–36.
4. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Mol. Biol. Evol.* – 2016. – Vol. 33, N 7. – P. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
5. Генетическое разнообразие эпидемически значимых возбудителей энтеровирусной инфекции / Н. В. Поклонская [и др.] // *Мол. медицина.* – 2011. – № 3. – С. 45–53.
6. Phylogenetic patterns of human coxsackievirus B5 arise from population dynamics between two genogroups and reveal evolutionary factors of molecular adaptation and transmission / C. Henquell [et al.] // *J. Virol.* – 2013. – Vol. 87, N 22. – P. 12249–12259. <https://doi.org/10.1128/jvi.02075-13>
7. Phylodynamic reconstruction of the spatiotemporal transmission and demographic history of coxsackievirus B2 / H. W. Huang [et al.] // *BMC Bioinformatics.* – 2015. – Vol. 16, N 1. – Art. 302. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0738-2>
8. Two coxsackievirus B3 outbreaks associated with hand, foot, and mouth disease in China and the evolutionary history worldwide / Z. Han [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2019. – Vol. 19, N 1. – Art. 466. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4107-z>
9. Pallansch, M. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses / M. Pallansch, R. Roos // *Fields Virology* / eds. D. M. Knipe, P. M. Howley. – 5th ed. – Philadelphia, 2007. – P. 839–893.
10. Xiang, Z. Enterovirus D68 and human respiratory infections / Z. Xiang, J. Wang // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2016. – Vol. 37, N 4. – P. 578–585. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584795>
11. Genetic diversity of respiratory enteroviruses and rhinoviruses in febrile adults, Singapore, 2007–2013 / M. Linster [et al.] // *Influenza Other Respir. Viruses.* – 2020. – Vol. 14, N 1. – P. 67–71. <https://doi.org/10.1111/irv.12662>
12. Enteroviruses and rhinoviruses: molecular epidemiology of the most influenza-like illness associated viruses in Senegal / A. Fall [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2016. – Vol. 95, N 2. – P. 339–347. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0799>

References

1. Simmonds P., Gorbalenya A. E., Harvala H., Hovi T., Knowles N. J., Lindberg A. M. [et al.]. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses. *Archives of Virology*, 2020, vol. 165, no. 6, p. 1515. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04558-x>
2. Muehlenbachs A., Bhatnagar J., Zaki S. Tissue tropism, pathology and pathogenesis of enterovirus. *Journal of Pathology*, 2015, vol. 235, no. 2, pp. 217–228. <https://doi.org/10.1002/path.4438>
3. Poklonskaya N. V., Amvros'eva T. V., Lozyuk S. K., Shilova Yu. A., Bogush Z. F., Biskina N. M. Molecular epidemiology of enteroviruses causing severe neurological infection forms. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 29–36 (in Russian).
4. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
5. Poklonskaya N. V., Bezruchko A. A., Amvros'eva T. V., Dedulya K. L. Genetic diversity of epidemically significant enteroviral infectious agents. *Molekulyarnaya meditsina [Molecular medicine]*, 2011, no. 3, pp. 45–53 (in Russian).
6. Henquell C., Mirand A., Richter J., Schuffenecker I., Bottiger B., Diedrich S., Terletskaia-Ladwig E., Christodoulou C., Peigue-Lafeuille H., Bailly J.-L. Phylogenetic patterns of human coxsackievirus B5 arise from population dynamics between two genogroups and reveal evolutionary factors of molecular adaptation and transmission. *Journal of Virology*, 2013, vol. 87, no. 22, pp. 12249–12259. <https://doi.org/10.1128/jvi.02075-13>
7. Huang H.-W., Chen Y.-S., Chen J. Y.-F., Lu P.-L., Lin Y.-C., Chen B.-C. [et al.]. Phylodynamic reconstruction of the spatiotemporal transmission and demographic history of coxsackievirus B2. *BMC Bioinformatics*, 2015, vol. 16, no. 1, art. 302. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0738-2>
8. Han Z., Zhang Y., Huang K., Wang J., Tian H., Song Y. [et al.]. Two coxsackievirus B3 outbreaks associated with hand, foot, and mouth disease in China and the evolutionary history worldwide. *BMC Infectious Diseases*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 466. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4107-z>
9. Pallansch M., Roos R. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. *Fields Virology, 5th ed.* Philadelphia, 2007, pp. 839–893.
10. Xiang Z., Wang J. Enterovirus D68 and human respiratory infections. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2016, vol. 37, no. 4, pp. 578–585. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584795>
11. Linster M., Donato C., Mah M. G., Grau M. L., Low J. G., Ooi E. E., Su Y. C. F., Smith G. J. D., Vijaykrishna D. Genetic diversity of respiratory enteroviruses and rhinoviruses in febrile adults, Singapore, 2007–2013. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 2020, vol. 14, no. 1, pp. 67–71. <https://doi.org/10.1111/irv.12662>
12. Fall A., Sarr F. D., Kiori D. E., Dia N., Richard V., Diop O. M. [et al.]. Enteroviruses and rhinoviruses: molecular epidemiology of the most influenza-like illness associated viruses in Senegal. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2016, vol. 95, no. 2, pp. 339–347. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0799>

Информация об авторах

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com

Шилова Юлия Александровна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Кишкурно Елена Петровна – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e-kishkurno@yandex.ru

Information about the authors

Natalia V. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Tamara V. Amvrosieva – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amvrosieva@gmail.com

Yuliya A. Shilova – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Elena P. Kishkurno – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e-kishkurno@yandex.ru

Т. В. Рябцева, Д. А. Макаревич, А. Д. Таганович

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

МОДЕЛИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОЛИГОПЕПТИДОВ С ФАКТОРОМ НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ-АЛЬФА

Аннотация. Целью исследования являлось конструирование, физико-химическая характеристика и анализ эффективности взаимодействия ФНО α с олигопептидами-аналогами участка взаимодействия ФНО α с ФНО α -R2. Приведены результаты анализа зоны контакта ФНО α с ФНО α -R2, определены потенциально наиболее эффективные олигопептиды, изучены свободная энергия связывания олигопептидов с ФНО α , изменение эффективности взаимодействия в зависимости от количества аминокислотных остатков в пептидной цепи, а также формы ФНО α (мономер или тример). На основании полученных данных описаны наиболее типичные локусы взаимодействия цитокина с олигопептидами. Для подтверждения правильности проведенных расчетов проведена оценка эффективности отобранных олигопептидов в экспериментах *in vitro*.

Для визуализации молекулярного комплекса и работы с pdb-файлом использовали программное обеспечение Chimera 1.14 с утилитой AutoDocVina, для исследований *in vitro* – наборы реактивов для определения концентрации ФНО α методом непрямого иммуноферментного анализа. Исходная концентрация олигопептидов – 10 μ моль, исходные концентрации ФНО α ($\times 10^{-8}$): 0; 0,0287; 0,0862; 0,2300; 0,5750; 1,4370 μ моль.

При взаимодействии олигопептидов с мФНО α отмечалось повышение эффективности связывания при увеличении количества аминокислотных остатков в цепи. При взаимодействии с трФНО α такой зависимости не наблюдалось. Анализ значений энергии связывания ди-, три- и тетрапептидов показал их статистически значимые различия при связывании с мФНО α и статистическую недостоверность различий при связывании с трФНО α .

Таким образом, полученные данные позволили сделать следующие выводы: 1) энергия взаимодействия олигопептидов с трФНО α не зависит от количества аминокислотных остатков в олигопептиде; 2) тримеризованная форма ФНО α более эффективно взаимодействует с олигопептидами по сравнению с мФНО α ; 3) олигопептиды, содержащие аминокислотный остаток -Trp- и являющиеся пространственным аналогом фрагмента ФНО α -R2 (-Trp⁶⁵-Asn⁶⁶-Trp⁶⁷-Val⁶⁸-Pro⁶⁹-), эффективнее взаимодействуют с молекулой ФНО α ; 4) отобранные олигопептиды (Trp-Asn-Trp, Trp-Val-Pro, Trp-Asn-Trp-Val) наиболее перспективны для связывания ФНО α . Результаты экспериментов *in vitro* подтвердили эффективность только одного (Trp-Asn-Trp) из трех олигопептидов.

Ключевые слова: олигопептиды, фактор некроза опухоли-альфа, цитокины, константа связывания, молекулярный докинг

Для цитирования: Рябцева, Т. В. Моделирование и анализ взаимодействия олигопептидов с фактором некроза опухоли-альфа / Т. В. Рябцева, Д. А. Макаревич, А. Д. Таганович // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 453–461. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-453-461>

Tatiana V. Ryabtseva, Denis A. Makarevich, Anatoliy D. Taganovich

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

MODELING AND INTERACTION ANALYSIS OF THE TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA WITH OLIGOPEPTIDES

Abstract. The aim of the study was the design, characteristics and analysis of the TNF α interaction with oligopeptide-analogs of the interaction site of TNF α with TNF α -R2. Here are the results of the analysis contact zone of TNF α with TNF α -R2, determination of the potentially most effective oligopeptides, study of the binding free energy of oligopeptides and its changes depending on the number of amino acid residues in the peptide chain, as well as the TNF α form (monomer or trimer). Here are described the most typical loci of oligopeptides interaction with cytokine. To confirm the calculations, the effectiveness of the selected oligopeptides was evaluated in experiments *in vitro*.

For visualization of the molecular complex and work with the pdb file we are used Chimera 1.14 software with AutoDocVina utility. For *in vitro* studies, were used indirect enzyme immunoassay reagent kits. The initial concentration of oligopeptides is 10 μ M, the initial concentration of TNF α ($\times 10^{-8}$): 0; 0.0287; 0.0862; 0.2300; 0.5750; 1.4370 μ M.

When oligopeptides interact with mTNF α , the binding efficiency increase was observed with an increase in the number of amino acid residues in the chain. With tTNF α , such dependence was not observed. A statistically significant difference was

observed in the binding energy of di-, tri-, and tetra peptides with mTNF α , with tTNF α , the differences found were not statistically significant.

Thus, the data were obtained, which allowed us to come to the following conclusions: 1) the energy of interaction of oligopeptides with tTNF α does not depend on the number of amino acid residues in the oligopeptide; 2) the trimerized form of TNF α interacts most effectively with oligopeptides in comparison with mTNF α ; 3) oligopeptides containing the -Trp- and being a spatial analogue of the TNF α -R2 fragment (-Trp65-Asn66-Trp67-Val68-Pro69-) interact most effectively; 4) it was selected three oligopeptides are the most promising for the binding of TNF α . The experiments *in vitro* confirmed the effectiveness only one oligopeptide.

Keywords: oligopeptides, tumor necrosis factor-alpha, cytokines, binding constant, molecular docking

For citation: Ryabtseva T. V., Makarevich D. A., Taganovich A. D. Modeling and interaction analysis of the tumor necrosis factor-alpha with oligopeptides. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 453–461 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-453-461>

Введение. Фактор некроза опухоли (ФНО) был открыт и идентифицирован в середине 1980-х годов. Первоначально функция ФНО была определена лишь как фактор, способствующий некрозу клеток опухоли [1, 2]. После появления рекомбинантного белка ФНО свойства данного белка были изучены более детально, что позволило обнаружить другие многочисленные биологические функции ФНО. Известно, что ФНО является плейотропным цитокином, обладающим многочисленными системными эффектами, такими как пирогенное действие, индукция синтеза острофазных белков, активация системы свертывания, индукция синтеза ИЛ-6 и ИЛ-1, резорбция костей, кахексия [3, 4]. ФНО α экспрессируется в виде трансмембранного тримерного белка (трФНО α). Этот белок связывается гомотримерными трансмембранными рецепторами: ФНО α -R1 (55 кДа) – CD120a и ФНО α -R2 (75 кДа) – CD120b [3]. ФНО α -R1 обладает провоспалительными и апоптотическими эффектами, ФНО α -R2 – множеством иммунорегуляторных и противовоспалительных функций [5, 6]. Комплекс ФНО α с ФНО α -R2 является мишенью для разработки новых лекарственных препаратов для лечения рака, аутоиммунной патологии, аллергии и других заболеваний [7–9]. Рецептор ФНО α -R2 – хороший прототип для моделирования олигопептидов, способных связывать ФНО α в плазме крови человека.

Существуют разработки антагонистов ФНО α на основе рекомбинантных белков и моноклональных антител. Однако эти препараты обладают рядом побочных эффектов, которые значительно превышают их клиническую эффективность [10–12]. Аптамеры (ssDNA, RNA, олигонуклеотиды и пептидные молекулы) обладают высокой специфичностью и аффинностью для связывания молекул-мишеней [13–15]. Поэтому разработка ингибиторов ФНО α на основе синтетических олигопептидов, на наш взгляд, является перспективной и актуальной задачей биохимии.

Моделирование биомолекул *in silico* становится все более популярным направлением исследований, ориентированных на поиск новых биологически активных соединений. С помощью методов молекулярного моделирования можно получить предварительную информацию о возможных способах специфического связывания молекулы-мишени, что позволит сократить финансовые и временные расходы на создание новых фармакологических препаратов [16–18].

Цель данного исследования – конструирование, физико-химическая характеристика и анализ эффективности взаимодействия ФНО α с олигопептидами-аналогами участка взаимодействия ФНО α с ФНО α -R2.

Основными задачами исследования являлись: выделение и анализ зоны контакта ФНО α с ФНО α -R2, построение олигопептидов и определение потенциально наиболее эффективных, анализ изменения свободной энергии связывания олигопептидов с ФНО α в зависимости от количества аминокислотных остатков, сравнительный анализ эффективности взаимодействия олигопептидов с мономерной и тримерной формами ФНО α , описание наиболее типичной локализации олигопептидов на поверхности молекулы ФНО α . Завершающим этапом исследования являлась оценка эффективности отобранных олигопептидов в экспериментах *in vitro* для подтверждения правильности проведенных расчетов.

Материалы и методы исследования. Начальным этапом компьютерного моделирования в исследовании являлся поиск pdb-файла, содержащего структурные данные молекулярного комплекса целевого белка (ФНО α) с его рецептором. Данный поиск проводили в международной

базе данных Protein Data Bank. По ключевому слову *TNF-TNFR2 complex* было найдено 126 411 структур. Для анализа использовали pdb-файл 3ALQ, для визуализации молекулярного комплекса и работы с pdb-файлом – программное обеспечение Chimera 1.14 с утилитой AutoDoc Vina, для построения аминокислотной последовательности – программу PyMOL. Всего было сконструировано 42 олигопептида с ФНО α (из них 15 – дипептиды), 14 трипептидов и 13 тетрапептидов и проанализированы особенности их взаимодействия. Анализ взаимодействия каждого из олигопептидов проводили и с мономером (мФНО α), и с трФНО α .

В исходном файле виртуального докинга определяли и удаляли гипотетически функционально незначимые части молекул. Затем с помощью команды <Dockerprepare> проводили протонирование, H- и C-кэппинг, релаксацию, ионизацию боковых цепей аминокислот как в молекуле ФНО- α , так и в молекуле олигопептида, а затем построение пространственно-рецепторной решетки сайта связывания. В данном случае в куб включали всю поверхность молекулы цитокина.

Для изучения взаимодействия трФНО α использовали координаты центра куба (Cx:20, Cy:50, Cz:40), размеры куба (Sx:80, Sy:75, Sz:75), для изучения взаимодействия мФНО- α – координаты центра куба (Cx:10, Cy:50, Cz:47), размеры куба (Sx:50, Sy:50, Sz:50).

Каждый лиганд случайным образом располагался в кубе и имел случайную конформацию, которая описывалась набором чисел. Финальную энергию для лучших кластеров рассчитывали как разность между значениями энергии перехода рецептора с лигандом из несвязанного положения в связанное. Результатом анализа являлась энергия ΔG (ккал/моль) и положение лиганда в активном центре рецептора. Разница энергии лигандов показывает, насколько один лиганд лучше связывается рецептором, чем другой. Положение лиганда в активном центре позволяет предсказывать механизм связывания [19, 20].

Для подтверждения правильности расчетов изучена эффективность перспективных олигопептидов *in vitro*. Концентрацию ФНО α определяли методом непрямого иммуноферментного анализа, используя наборы реактивов. Олигопептиды для ФНО α (WVP (M = 504,53 Да), WNWV (M = 604,30 Да), WNW (M = 504,53 Да)) были синтезированы на предприятии Changzhou Xuanming Chemical Co. Ltd., (Чанчжоу, Цзянсу, Китай). Исходная концентрация олигопептидов – 10 μ моль, концентрация в лунке – 1 μ моль. Исходные концентрации ФНО α ($\times 10^{-8}$): 0; 0,0287; 0,0862; 0,2300; 0,5750; 1,4370 μ моль. Используемые концентрации цитокинов и олигопептидов создавали избыток молекул олигопептидов по сравнению с молекулами цитокинов. На 1 молекулу цитокина приходилось не менее $1 \cdot 10^9$ молекул олигопептида. Последовательность проведения исследования включала все стандартные для протокола иммуноферментного анализа этапы. Для оценки связывания олигопептидов с цитокинами был добавлен один дополнительный этап. Через 60 мин от начала инкубации растворов цитокинов в соответствующие лунки планшета добавляли растворы олигопептидов. Далее все этапы промывки, добавления конъюгатов, ТМБ и измерение оптической плотности проводили в соответствии с инструкциями к используемому набору реактивов. Реакция взаимодействия олигопептида с цитокином обратима и может быть описана законом действующих масс, что позволяет рассчитать константу связывания олигопептида с цитокином. Константу связывания рассчитывали по формуле: $K_{св} = [Ц + П]/([Ц] + [П])$, где $[Ц + П]$ – концентрация комплекса олигопептида с цитокином, которая рассчитывалась как разность между исходной концентрацией цитокина и его концентрацией после инкубации с олигопептидом: $[Ц + П] = [Ц_{исх}] - [Ц_{после}]$.

Статистическую обработку полученных значений свободной энергии анализировали с помощью программы Statistica 10.0. Для описания результатов вычисляли значения медианы и межквартильного размаха, для сравнительной характеристики независимых выборок (выборка значений по отдельным олигопептидам) – медианный тест и критерий Краскела–Уоллиса, для сравнительной характеристики зависимых выборок (выборка значений по одному олигопептиду при связывании мФНО α и трФНО α) – U-критерий Манна–Уитни и критерий Колмогорова–Смирнова. Сопоставление констант связывания, рассчитанных при использовании различных концентраций цитокинов в среде, осуществляли с помощью дисперсионного анализа, используя критерий Фридмана.

Результаты и их обсуждение. Для выделения участков взаимодействия ФНО α с растворимым рецептором ФНО α -R2 анализировали пространственную структуру комплекса в pdb-файле 3ALQ. Представленная там структура состояла из 12 цепочек. Предварительная подготовка включала удаление 6 цепочек, которые дублировались. Затем удаляли структурные части рецептора, которые не участвовали в образовании межмолекулярного контакта. Анализ проводили на трех полипептидных цепях ФНО α (А, В, С) и трех цепях ФНО α -R2 (R, S, T).

С помощью программного обеспечения были обнаружены две межмолекулярные водородные связи: между Trp⁶⁷ ФНО α -R2 и Ser⁸⁶ ФНО α и между Cys⁷¹ ФНО α -R2 и Ala³³ ФНО α . Они выполняли роль «опорных точек» для выделения пептидной цепи и конструирования олигопептидов-аналогов участка взаимодействия ФНО α с ФНО α -R2. Дальнейший анализ показал, что выделенная аминокислотная последовательность -Gln⁶³-Leu⁶⁴-Trp⁶⁵-Asn⁶⁶-Trp⁶⁷-Val⁶⁸-Pro⁶⁹-Glu⁷⁰-Cys⁷¹-Leu⁷²-Ser⁷³-Cys⁷⁴-Gly⁷⁵-Ser⁷⁶-Arg⁷⁷-Cys⁷⁸- находится в Т-цепи белка ФНО α -R2 и контактирует с А- и С-цепями молекулы ФНО α . Данные аминокислотные остатки, как оказалось, находятся в CRD1-регионе молекулы ФНО α -R2, который считается ответственным за связывание с цитокином, что подтверждается данными литературы [9] и результатами исследования межатомных расстояний в точке контакта молекул (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Анализ межатомных расстояний между аминокислотными остатками ФНО α -R2 (Т-цепь) и ФНО α (А- и С-цепи)

Table 1. The interatomic distances between the TNF-R2 (T-chain) and TNF- α (A- and C-chain) amino acid residues

ФНО α -R2 (Т-цепь)	ФНО α (А-цепь)	ФНО α (С-цепь)	Расстояние, Å
-Gln63-	-Tyr87-		3,107
-Leu64-	-Thr89-		3,518
-Trp65-	-Gln88-		10,606
-Asn66-	-Tyr87-		4,899
-Trp67-*	-Ser86-*		3,372
-Val68-	-Tyr87-		4,421
-Pro69-		-Ala133-	5,689
-Glu70-		-Arg31-	3,256
-Cys71-*		-Ala133-*	2,903
-Leu72-		-Ala133-	3,282
-Ser73-		-Arg32-	2,593
-Cys74-		-Gln21-	3,245
-Gly75-	–	–	–
-Ser76-		-Ala145-	4,456
-Arg77-		-Glu23-	2,763
-Cys78-		-Gln21-	10,307

Пр и м е ч а н и е. * – аминокислотные остатки, участвующие в образовании водородных связей согласно расчетам Chimera 1.14.

Рассчитанная медиана всех измеренных межатомных расстояний в изучаемом участке составила 3,37 [3,10–4,90] Å, что достаточно для возникновения сильных межмолекулярных взаимодействий. Выбранную аминокислотную последовательность разделили на ди-, три- и тетрапептиды, которые были сконструированы для дальнейшего анализа свободной энергии связывания с ФНО α (табл. 2).

Определение свободной энергии связывания олигопептидов с мФНО α и трФНО α позволило отобрать перспективные для химического синтеза соединения, предположительно обладающие способностью максимально эффективно взаимодействовать с ФНО α . Среди дипептидов наилучшие показатели энергии связывания как с мономером, так и с тримером ФНО α показали дипептиды Trp-Asn, Asn-Trp, Trp-Val. Наименее эффективное связывание с ФНО α продемонстрировали дипептиды Cys-Gly, Gly-Ser, Ser-Cys.

Таблица 2. Значения свободной энергии связывания олигопептидов-аналогов цитокинсвязывающей области ФНО α -R2 с ФНО α Table 2. The free binding energy of oligopeptides-analogs of the cytokine-binding region of TNF-R2 with TNF- α

Пептиды	Свободная энергия связывания, – ккал/моль	
	мФНО α	трФНО α
Trp-Asn	5,55 [5,37–5,80]	7,40 [6,95; 7,80]*
Asn-Trp	5,30 [5,20–5,40]	7,40 [6,45; 7,62]*
Trp-Val	5,10 [5,00–5,35]	6,90 [6,00; 7,25]*
Leu-Trp	4,70 [4,60–4,90]	6,05 [5,47; 6,75]*
Gln-Leu	4,40 [4,30–4,50]	5,45 [4,70; 6,12]*
Val-Pro	4,20 [4,10–4,40]	5,90 [5,60; 6,00]*
Pro-Glu	4,20 [4,10–4,30]	5,75 [5,60; 5,90]*
Leu-Ser	4,10 [4,00–4,22]	5,20 [4,37; 5,52]*
Ser-Arg	4,00 [3,80–4,00]	5,60 [4,47; 6,02]*
Arg-Cys	4,00 [3,90–4,10]	6,10 [5,90; 6,20]*
Glu-Cys	3,95 [3,80–4,00]	5,30 [5,30; 5,52]*
Cys-Leu	3,90 [3,70–4,00]	4,85 [4,60; 5,12]*
Ser-Cys	3,90 [3,80–3,95]	4,70 [4,50; 4,90]*
Gly-Ser	3,80 [3,70–3,90]	4,65 [4,40; 4,90]*
Cys-Gly	3,50 [3,40–3,62]	4,25 [4,07; 4,30]*
<i>Все дупептиды</i>	<i>4,10 [3,92–4,55]**</i>	<i>5,60 [5,02; 6,07]*</i>
Trp-Asn-Trp	6,50 [6,40–6,62]	7,25 [6,75; 7,70]*
Leu-Trp-Asn	6,00 [5,90–6,10]	5,90 [5,45; 6,50]
Gln-Leu-Trp	5,80 [5,70–5,60]	6,40 [6,30; 6,55]*
Asn-Trp-Val	5,75 [5,60–5,90]	5,90 [5,77; 6,10]*
Trp-Val-Pro	5,60 [5,37–5,80]	7,30 [7,10; 8,20]*
Pro-Glu-Cys	4,75 [4,70–4,90]	6,05 [5,40; 6,42]*
Val-Pro-Glu	4,70 [4,60–5,00]	5,10 [5,00; 5,12]*
Gly-Ser-Arg	4,55 [4,37–4,72]	6,50 [6,10; 6,80]*
Cys-Leu-Ser	4,45 [4,30–4,52]	5,05 [4,80; 5,20]*
Leu-Ser-Cys	4,40 [4,20–4,50]	5,90 [5,77; 6,20]*
Glu-Cys-Leu	4,35 [4,10–4,50]	5,00 [4,92; 5,10]*
Ser-Arg-Cys	4,30 [4,17–4,40]	5,45 [5,30; 5,90]*
Ser-Cys-Gly	4,20 [4,20–4,32]	5,45 [5,17; 5,70]*
Cys-Gly-Ser	4,20 [4,10–4,30]	5,40 [5,17; 5,72]*
<i>Все трипептиды</i>	<i>4,62 [4,36–5,71]**</i>	<i>5,90 [5,41; 6,30]*</i>
Trp-Asn-Trp-Val	6,75 [6,60; 6,82]	7,20 [7,10; 7,50]*
Asn-Trp-Val-Pro	6,45 [5,97; 6,60]	6,60 [6,20; 6,95]*
Leu-Trp-Asn-Trp	6,30 [6,17; 6,40]	7,10 [6,97; 7,52]*
Trp-Val-Pro-Glu	6,10 [5,77; 6,20]	7,25 [6,40; 7,40]*
Gln-Leu-Trp-Asn	5,60 [5,20; 6,02]	6,05 [5,50; 6,32]*
Pro-Glu-Cys-Leu	5,00 [4,90; 5,12]	5,35 [5,10; 5,72]*
Glu-Cys-Leu-Ser	4,85 [4,80; 5,00]	5,60 [5,17; 6,15]*
Cys-Gly-Ser-Arg	4,75 [4,67; 4,90]	6,95 [6,57; 7,15]*
Val-Pro-Glu-Cys	4,70 [4,60; 4,90]	5,20 [5,00; 5,42]*
Leu-Ser-Cys-Gly	4,70 [4,67; 4,90]	5,50 [5,07; 6,42]*
Ser-Cys-Gly-Ser	4,60 [4,60; 4,82]	6,15 [5,75; 6,52]*
Gly-Ser-Arg-Cys	4,50 [4,47; 4,62]	5,70 [5,00; 6,55]*
Cys-Leu-Ser-Cys	4,50 [4,40; 4,60]	5,10 [4,77; 5,42]*
<i>Все тетрапептиды</i>	<i>4,85 [4,70; 6,10]**</i>	<i>6,05 [5,50; 6,95]*</i>

Примечание. Достоверность различий ($p \leq 0,05$): * – при сравнении энергии связывания в зависимости от формы молекулы ФНО α , ** – при сравнении энергии связывания ди-, три- и тетрапептидов.

Среди трипептидов более эффективными энергиями связывания с мФНО α обладали Trp-Asn-Trp, Leu-Trp-Asn, Gln-Leu-Trp, с трФНО α – Trp-Val-Pro, Trp-Asn-Trp, Gly-Ser-Arg. Наименее эффективная энергия связывания (значения близкие к «0») была для трипептидов с мФНО α у Ser-Arg-Cys, Ser-Cys-Gly, Cys-Gly-Ser, с трФНО α – у Val-Pro-Glu, Cys-Leu-Ser, Glu-Cys-Leu.

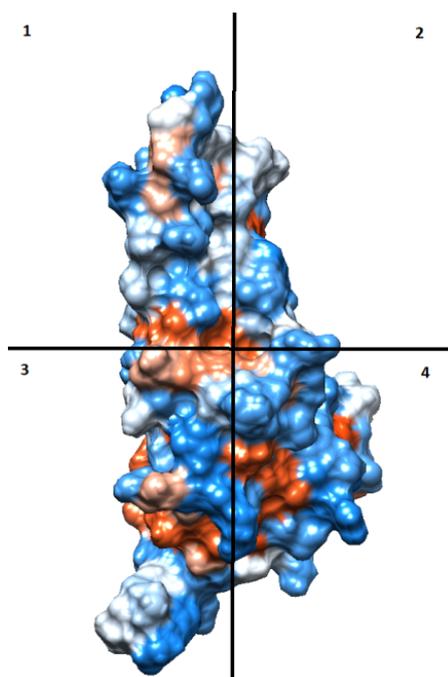
Среди тетрапептидов более эффективная энергия связывания с мФНО α была характерна для Gln-Leu-Trp-Asn, Leu-Trp-Asn-Trp, Trp-Asn-Trp-Val, с трФНО α – Gln-Leu-Trp-Asn, Leu-Trp-Asn-Trp, Trp-Asn-Trp-Val. Наименее эффективное связывание трипептидов с мФНО α у Ser-Cys-Gly-Ser, Cys-Gly-Ser-Arg, Gly-Ser-Arg-Cys, с трФНО α – у Ser-Cys-Gly-Ser, Cys-Gly-Ser-Arg, Gly-Ser-Arg-Cys.

Сравнение всех проанализированных олигопептидов показало, что те из них, которые в своем составе содержат аминокислотный остаток -Trp-, являются более энергетически эффективными. Они характеризуются максимальной энергией взаимодействия (с мФНО α – 5,77 [5,55–6,30] ккал/моль, с трФНО α – 7,00 [6,05–7,30] ккал/моль), чем другие исследованные олигопептиды (с мФНО α – 4,42 [4,10–4,70] ккал/моль, с трФНО α – 5,42 [5,07–5,80] ккал/моль).

При взаимодействии олигопептидов с мФНО α отмечали повышение эффективности связывания при увеличении количества аминокислотных остатков в цепи. При взаимодействии с трФНО α такой зависимости не наблюдали. Анализ значений энергии связывания ди-, три- и тетрапептидов показал статистически значимые различия при их связывании с мФНО α и статистически незначимые различия при связывании с трФНО α (см. табл. 2). Анализ результатов энергии связывания олигопептидов в зависимости от формы ФНО α (мономер и тример) показал, что связывание олигопептидов с трФНО α энергетически более выгодно, чем связывание с мФНО α (табл. 2).

Различия в энергии связывания олигопептидов с разными формами ФНО α могут быть обусловлены локализацией взаимодействия олигопептидов на поверхности молекулы трФНО α . В 97 % наблюдений олигопептиды встраивались в центр молекулы, между субъединицами трФНО α . В 21 % наблюдений взаимодействие олигопептидов с трФНО α происходило на боковых поверхностях молекулы. При этом данная локация являлась дополнительной. Таким образом, встраивание олигопептида между субъединицами в молекуле трФНО α является термодинамически более выгодной локацией.

Для локусов взаимодействия олигопептидов с мФНО α характерно большее разнообразие. Для более точного описания локаций олигопептидов с поверхностью молекулы мФНО α ее молекула



Деление молекулы мФНО α на квадранты для описания локуса взаимодействия с олигопептидами

The mFNO α molecule division into quadrants to describe the interaction locus

была разделена на квадранты (см. рисунок). В 59 % наблюдений олигопептиды располагались на поверхности мФНО α во втором квадранте, в 50 % – в первом, в 33 % – в третьем, в 21 % – в четвертом квадранте. Таким образом, верхняя часть молекулы мФНО α (первый и второй квадрант) является более энергетически выгодной для взаимодействия с олигопептидами.

Для экспериментов *in vitro* отобраны олигопептиды с наибольшей энергией связывания как с мФНО α , так и с трФНО α . Обнаружены волнообразные изменения константы связывания при изменении концентрации цитокина в среде. При минимальной концентрации ФНО α ($0,0287 \cdot 10^{-8}$ $\mu\text{моль}$) все три олигопептида взаимодействуют с цитокином, имеющим коэффициент связывания более $0,9 \cdot 10^{-8}$ $\mu\text{моль}$. Далее, по мере увеличения концентрации ФНО α , константа связывания снижалась. Статистически значимые различия в константе связывания наблюдали при высоких концентрациях цитокина в среде ($0,575 \cdot 10^{-8}$ и $1,437 \cdot 10^{-8}$ $\mu\text{моль}$).

На основании анализа полученных результатов можно заключить, что олигопептид WNW является более эффективным, так как характеризуется наилучшей свободной энергией связывания ($-7,25$ [6,70–7,70] ккал/моль) и высокой, по сравнению с другими олигопептидами, константой связывания – $K_{\text{св}} = 0,1809$ [0,1809–0,1858] $\mu\text{моль}^{-1}$ (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Характеристика эффективности связывания синтетических олигопептидов ФНО α

Table 3. Characteristics of the binding efficiency of synthetic oligopeptides with TNF α

Лиганд	Рецептор	Константа связывания <i>in vitro</i> , $\mu\text{моль}^{-1}$	Св. энергия связывания мФНО α <i>in silico</i> , – ккал/моль	Св. энергия связывания трФНО α <i>in silico</i> , – ккал/моль
WVP	ФНО α	0,0772 [0,0758–0,0800]	5,60 [5,35–5,80]	7,30 [7,10–8,20]
WNWV		0,0807 [0,0786–0,0835]	6,75 [6,60–6,85]	7,20 [7,10–7,50]
WNW		0,1809 [0,1809–0,1858]*	6,50 [6,40–6,62]*	7,25 [6,75–7,70]

П р и м е ч а н и е. * – результаты достоверны ($p \leq 0,05$).

Заключение. Таким образом, на основании полученных с помощью молекулярного докинга данных можно сделать следующие выводы: 1) энергия взаимодействия олигопептидов с трФНО α не зависит от количества аминокислотных остатков в олигопептиде; 2) тримеризованная форма ФНО α более эффективно взаимодействует с олигопептидами по сравнению с мФНО α ; 3) олигопептиды, содержащие аминокислотный остаток -Trp- и являющиеся пространственным аналогом фрагмента ФНО α -R2 (-Trp⁶⁵-Asn⁶⁶-Trp⁶⁷-Val⁶⁸-Pro⁶⁹-) эффективнее взаимодействуют с молекулой ФНО α ; 4) отобранные олигопептиды (Trp-Asn-Trp, Trp-Val-Pro, Trp-Asn-Trp-Val) наиболее перспективны для связывания ФНО α . Результаты экспериментов *in vitro* подтвердили эффективность только одного (Trp-Asn-Trp) из трех олигопептидов.

Список использованных источников

1. Aggarwal, B. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey / B. Aggarwal, S. Gupta, J. Kim // *Blood*. – 2012. – Vol. 119, N 3. – P. 651–665. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-325225>
2. Steeland, S. A new venue of TNF targeting / S. Steeland, C. Libert, R. E. Vandenbroucke // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 5. – P. 1–55. <https://doi.org/10.3390/ijms19051442>
3. Idriss, H. T. TNF α and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s) / H. T. Idriss, J. H. Naismith // *Microscopy Res. Technique*. – 2000. – Vol. 50, N 3. – P. 184–195. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000801\)50:3<184::aid-jemt2>3.0.co;2-h](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000801)50:3<184::aid-jemt2>3.0.co;2-h)
4. Solution of the structure of the TNF-TNFR2 complex / Y. Mukai [et al.] // *Sci. Sign.* – 2010. – Vol. 3, iss.148. – P. 1–10. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000954>
5. Smith, R. The active form of tumor necrosis factor is a trimer / R. Smith, C. Baglioni // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262, N 15. – P. 6951–6954. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)48183-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)48183-5)
6. Faustman, D. TNF receptor 2 pathway: drug target for autoimmune diseases / D. Faustman, M. Davis // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2010. – Vol. 9, N 6. – P. 482–493. <https://doi.org/10.1038/nrd3030>
7. The key role of TNF-TNFR2 Interactions in the modulation of allergic inflammation: a review / S. Ahmad [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 2572. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02572>
8. Cytokine induction of tumor necrosis factor receptor 2 is mediated by STAT3 in colon cancer cells / K. E. Hamilton [et al.] // *Mol. Cancer Res.* – 2011. – Vol. 9, N 12. – P. 1718–1731. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-10-0210>

9. Sheng, Y. Makes tumor necrosis factor a friend of tumors / Y. Sheng, F. Li, Z. Qin // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 1170. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01170>
10. Anti-TNF- α therapies: the next generation / M. A. Palladion [et al.] // *Nat. Rev.* – 2003. – Vol. 2, N 9. – P. 736–744. <https://doi.org/10.1038/nrd1175>
11. Desai, S. Problems encountered during anti-tumour necrosis factor therapy / S. Desai, D. E. Furst // *Best Practice Res. Clin. Rheumatol.* – 2006. – Vol. 20, N 4. – P. 757–790. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2006.06.002>
12. Sharma, R. TNF-alpha inhibitors: current indications / R. Sharma, C. L. Sharma // *Indian J. Crit. Care Med.* – 2007. – Vol. 11, N 3. – P. 139–148. <https://doi.org/10.4103/0972-5229.35087>
13. Aptamers against pro- and anti-inflammatory cytokines: a review / M. Boshtam [et al.] // *Inflammation.* – 2016. – Vol. 40, N 1. – P. 340–349. <https://doi.org/10.1007/s10753-016-0477-1>
14. Fosgerau, K. Peptide therapeutics: current status and future directions / K. Fosgerau, T. Hoffmann // *Drug Discovery Today.* – 2015. – Vol. 20, N 1. – P. 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.003>
15. A potential peptide derived from cytokine receptors can bind proinflammatory cytokines as a therapeutic strategy for antiinflammation / S.-J. Jiang [et al.] // *Sci. Reports.* – 2019. – Vol. 9. – Art. 2317. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-36492-z>
16. Zoete, V. Docking, virtual high through put screening and in silico fragment-based drug design / V. Zoete, A. Grosdidier, O. J. Michielin // *J. Cell. Mol. Med.* – 2009. – Vol. 13, N 2. – P. 238–248. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00665.x>
17. Discovery of novel ligands for TNF- α and TNF receptor-1 through structure-based virtual screening and biological assay / S. Chen [et al.] // *J. Chem. Inf. Model.* – 2017. – Vol. 57, N 5. – P. 1101–1111. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00672>
18. Identification of potential TNF- α inhibitors: from in silico to *in vitro* studies / K. Zia [et al.] // *Sci. Reports.* – 2020. – Vol. 10. – Art. 20974. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77750-3>
19. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility / G. M. Morris [et al.] // *J. Comp. Chem.* – 2009. – Vol. 30, N 16. – P. 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
20. Гуреев, М. А. Молекулярный докинг и его верификация в контексте виртуального скрининга / М. А. Гуреев, В. В. Кадочников, Ю. Б. Порозов. – СПб. : УН-Т ИТМО, 2018 – 50 с.

References

1. Aggarwal B., Gupta S., Kim J. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 3, pp. 651–665. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-04-325225>
2. Steeland S., Libert C., Vandenbroucke R. E. A new venue of TNF targeting. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 5, pp. 1–55. <https://doi.org/10.3390/ijms19051442>
3. Idriss H. T., Naismith J. H. TNF α and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy Research and Technique*, 2000, vol. 50, no. 3, pp. 184–195. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000801\)50:3<184::aid-jemt2>3.0.co;2-h](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000801)50:3<184::aid-jemt2>3.0.co;2-h)
4. Mukai Y., Nakamura T., Yoshikawa M., Yoshioka Y., Tsunoda S.-I., Nakagawa S., Yamagata Y., Tsutsumi Y. Solution of the structure of the TNF-TNFR2 complex. *Science Signaling*, 2010, vol. 3, iss. 148, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000954>
5. Smith R., Baglioni C. The active form of tumor necrosis factor is a trimer. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, vol. 262, no. 15, pp. 6951–6954. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)48183-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)48183-5)
6. Faustman D., Davis M. TNF receptor 2 pathway: drug target for autoimmune diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2010, vol. 9, no. 6, pp. 482–493. <https://doi.org/10.1038/nrd3030>
7. Ahmad S., Azid N. A., Boer J. C., Lim J., Chen X., Plebanski M., Mohamud R. The key role of TNF-TNFR2 interactions in the modulation of allergic inflammation: a review. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, art. 2572. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02572>
8. Hamilton K. E., Simmons J. G., Ding S., van Landeghem L., Lund P. K. Cytokine induction of tumor necrosis factor receptor 2 is mediated by STAT3 in colon cancer cells. *Molecular Cancer Research*, 2011, vol. 9, no. 12, pp. 1718–1731. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-10-0210>
9. Sheng Y., Li F., Qin Z. Makes tumor necrosis factor a friend of tumors. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, art. 1170. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01170>
10. Palladino M. A., Bahjat F. R., Teodorakis E. A., Moldawer L. L. Anti-TNF- α therapies: the next generation. *Nature Reviews*, 2003, vol. 2, no. 9, pp. 736–744. <https://doi.org/10.1038/nrd1175>
11. Desai S., Furst D. E. Problems encountered during anti-tumor necrosis factor therapy. *Best Practice and Research Clinical Rheumatology*, 2006, vol. 20, no. 4, pp. 757–790. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2006.06.002>
12. Sharma R., Sharma C. L. TNF-alpha inhibitors: current indications. *Journal of Critical Care Medicine*, 2007, vol. 11, no. 3, pp. 139–148. <https://doi.org/10.4103/0972-5229.35087>
13. Boshtam M., Asgary S., Kouhpayeh S., Shariati L., Khanahmad H. Aptamers against pro- and anti-inflammatory cytokines: a review. *Inflammation*, 2016, vol. 40, no. 1, pp. 340–349. <https://doi.org/10.1007/s10753-016-0477-1>
14. Fosgerau K., Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discovery Today*, 2015, vol. 20, no. 1, pp. 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.003>
15. Jiang S.-J., Tsai P.-I., Peng S.-Y., Chang C.-C., Chung Y., Tsao H.-H., Huang H.-T., Chen S.-Y., Hsu H.-J. A potential peptide derived from cytokine receptors can bind proinflammatory cytokines as a therapeutic strategy for antiinflammation. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, art. 2317. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36492-z>

16. Zoete V., Grosdidier A., Michielin O. J. Docking, virtual high through put screening and in silico fragment-based drug design. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2009, vol. 13, no. 2, pp. 238–248. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00665.x>

17. Chen S., Feng Z., Wang Y., Ma S., Hu Z., Yang P., Chai Y., Xie X. Discovery of novel ligands for TNF- α and TNF Receptor-1 through structure-based virtual screening and biological assay. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2017, vol. 57, no. 5, pp. 1101–1111. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00672>

18. Zia K., Ashraf S., Jabeen A., Saeed M., Nur-e-Alam M., Ahmed S., Al-Rehaily A. J., Ul-Haq Z. Identification of potential TNF- α inhibitors: from in silico to in vitro studies. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, art. 20974. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77750-3>

19. Morris G. M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M. F., Belew R. K., Goodsell D. S., Olson A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 2009, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>

20. Gureev M. A., Kadochnikov V. V., Porosov Yu. B. *Molecular docking and its verification in the context of virtual screening*. St. Petersburg, Saint Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, 2018. 50 p. (in Russian).

Информация об авторах

Рябцева Татьяна Владимировна – науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ta-yana@yandex.ru

Макаревич Денис Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: demkarevich@yandex.ru

Таганович Анатолий Дмитриевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: 83taganovich@bsmu.by

Information about the authors

Tatiana V. Ryabtseva – Researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ta-yana@yandex.ru

Denis A. Makarevich – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: demkarevich@yandex.ru

Anatoliy D. Taganovich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 83taganovich@bsmu.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 574.587
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-462-474>

Поступила в редакцию 02.04.2021
Received 02.04.2021

И. И. Лапука, В. В. Вежновец

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

ВЛИЯНИЕ ПОДОГРЕВА ВОДЫ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗООБЕНТОСА ВОДОЕМА-ОХЛАДИТЕЛЯ ЛУКОМЛЬСКОЙ ГРЭС

Аннотация. Изучено изменение численности зообентоса на разных глубинах подогретой и неподогретой акваторий в летний и осенний периоды. Установлено, что независимо от сезона в зоне подогрева средняя численность зообентоса приблизительно в 1,5–2 раза ниже, чем в условиях естественной температуры. Основу численности в обеих зонах составлял олигохетно-хириномидный комплекс. Численность сообщества в целом, его отдельных таксономических групп и видов изменялась с глубиной. Распределение общей численности по глубине носило схожий характер в подогреваемой и неподогреваемой областях в оба сезона года: от мелководья с увеличением глубины отмечался ее рост до максимальных величин, а затем постепенное понижение при приближении ко дну.

Ключевые слова: зообентос, численность, пространственная структура, подогреваемая зона, неподогреваемая зона

Для цитирования: Лапука, И. И. Влияние подогрева воды на количественные показатели зообентоса водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС / И. И. Лапука, В. В. Вежновец // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 462–474. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-462-474>

Ilya I. Lapuka, Vasili V. Vezhnavevts

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

THE EFFECT OF HEATING WATER ON THE QUANTITATIVE PARAMETERS OF THE ZOOBENTHOS OF THE LUKOMLSKAYA GRES COOLING RESERVOIR

Abstract. The changes abundance zoobenthos at the heated zone and non-heated zone on the different depths in summer and autumn was studying in this article. In the heated zone, the abundance was 1.5–2 times higher than in the non-heated zone in summer and autumn. The basis of the number zoobenthos was oligochaete-chironomid complex. Number distributions zoobenthos was similar to the heated zone and non-heated zone in the summer and autumn.

Keywords: zoobenthos, abundance, spatial structure, heated zone, non-heated zone

For citation: Lapuka I. I., Vezhnavevts V. V. The effect of heating water on the quantitative parameters of the zoobenthos of the Lukomlskaya GRES cooling reservoir. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 462–474 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-462-474>

Введение. Зообентос оз. Лукомльское исследован достаточно детально и фактические данные по численности и биомассе есть начиная с 1968 г. [1], т. е. почти с начала его эксплуатации в качестве водоема-охладителя ГРЭС по настоящее время. Согласно приведенному источнику, рост численности отмечался до конца 1980-х годов, а в последние годы наблюдалась ее стабилизация на новом уровне (отметим, что все изменения в водоеме в цитируемой выше монографии приведены по средним показателям для обширной сети станций, без разделения на подогреваемые и неподогреваемые участки). Авторы [1] указывают три основные причины изменений в зообентосе: сброс подогретых вод, повышение фосфорной нагрузки во время функционирования садкового комплекса для выращивания рыбы и вселение чужеродного моллюска дрейссены.

Влияние подогрева воды на зообентос этого водоема впервые было рассмотрено А. Ю. Каратаевым [2–4], но только на примере литоральных станций. Влияние подогрева на фаунистическую структуру зообентоса при раздельном анализе участков с разной степенью влияния теплового сброса и разной глубиной проанализировано нами ранее [5]. В настоящей работе нами

применен такой же подход для установления различий и возможного влияния теплых вод на количественные показатели развития зообентоса на станциях с разной глубиной.

Целью работы было установить показатели численности и биомассы зообентоса в подогреваемой и неподогреваемой зонах водоема в различные сезоны года и оценить влияние подогрева на их распределение.

Материалы и методы исследования. Оз. Лукомльское находится в Чашницком районе в бассейне р. Улла, у западной окраины г. Новолукомль. Площадь озера 36,7 км², длина 10,4 км, максимальная ширина 6,5 км, наибольшая глубина 11,5 м. Дно до глубины 5–6 м выстлано песчаными отложениями, глубже – сапропелем [5].

Пробы зообентоса были отобраны на 5 станциях разной глубины (0,5; 1,5; 3,0; 6,0 и 8,0 м) у сброса подогретых вод и на этих же глубинах вне подогреваемой зоны 11 июня и 25 сентября 2019 г. В литоральной зоне отбор проб производили протягиванием гидробиологического сачка, на остальных глубинах – дночерпателем Боруцкого (площадь захвата 0,0225 м²) в трехкратной повторности. Отделение животных от грунта осуществляли с помощью сачка-промывалки из мельничного сита с диаметром ячеек 300 мкм.

Учет и измерение животных проводили под бинокулярным микроскопом МБС-10 при 56-кратном увеличении. Детали морфологии уточняли с помощью микроскопа Jenaval при 250-кратном увеличении. Для определения животных использовали источники [6–11], входящие в пособия «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».

Для измерения температуры воды и содержания кислорода использовали термооксиметр Hanna HI 9143.

Летом у выпуска подогретых вод температура поднималась до 31,3 °С, при этом у ненарушенной подогревом контрольной акватории она составляла около 24° (табл. 1). Поверхностная температура по мере удаления от места выпуска снижалась с 7,3 до 4,4 °С на глубоководных станциях. Влияние подогретых вод на терморегим водоема прослеживался до глубины 2 м. На самых глубоких станциях разница между придонной и поверхностной температурой в зоне подогрева составила 11 °С, вне зоны – около 7 °С.

Т а б л и ц а 1. Изменение температуры воды на станциях в подогреваемой (ПЗ) и неподогреваемой (НПЗ) зонах летом (11.06.2019 г.)

Table 1. Change in water temperature at the stations of the heated and non-heated zones in summer (11.06.2019)

Глубина, м	Станция 1		Станция 2		Станция 3		Станция 4		Станция 5	
	ПЗ	НПЗ								
0	31,3	24,0	31,3	23,8	31,3	23,7	28,9	23,8	28,2	23,8
1			31,3	23,8	27,4	23,7	26,8	23,9	27,4	23,8
2			31,3	23,8	25,2	23,7	24,9	23,9	25,7	23,8
3					23,9	23,7	23,8	23,6	24,7	23,4
4							23,5	23,4	23,2	23,2
5							22,4	22,3	22,1	22,2
6							20,4	20	20,1	19,6
7									18,1	17,5
8									17,2	17,0
9										16,4

Летом поверхностные слои воды обеих зон были достаточно насыщены кислородом, при этом в более прогретых водах отмечалось некоторое снижение его содержания (табл. 2). Дефицит наблюдался в придонных слоях, начиная с глубины 8 м. Понижение его концентрации (менее 1 мг/л), возможно, оказывало лимитирующее влияние на развитие зообентоса.

Т а б л и ц а 2. Изменение концентрации кислорода на станциях в подогреваемой (ПЗ) и непогрееваемой (НПЗ) зонах летом (11.06.2019 г.)

T a b l e 2. Change in oxygen concentration at the stations of the heated and non-heated zones in summer (11.06.2019)

Глубина, м	Станция 1		Станция 2		Станция 3		Станция 4		Станция 5	
	ПЗ	НПЗ								
0	6,5	7,6	6,7	7,8	6,5	7,9	7,1	7,5	7,2	8,0
1			6,7	7,4	6,8	7,8	6,9	7,5	7,1	7,6
2			6,7	6,9	7,5	7,2	7,2	7,0	7,1	7,4
3					7,5	6,5	7,4	7,0	7,3	7,2
4							6,6	7,0	6,7	6,2
5					ë		5,7	6,6	6,4	4,4
6							1,8	3,9	5,5	3,1
7									3,5	1,8
8									0,6	0,9
9										0,0

Осенью температурные условия у поверхности даже в непосредственной близости от выпуска были близки к летней температуре – 22,4 °С, а по мере удаления от него постепенно снижались до 18,7 °С. Изменения с глубиной наблюдались только на станциях с подогревом, остальная акватория во время отбора проб при достаточно ветреной погоде подвергалась полному перемешиванию (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Изменение температуры воды на станциях в подогреваемой (ПЗ) и непогрееваемой (НПЗ) зонах осенью (25.09.2019 г.)

T a b l e 3. Change in water temperature at the stations of the heated and non-heated zones in autumn (25.09.2019)

Глубина, м	Станция 1		Станция 2		Станция 3		Станция 4		Станция 5	
	ПЗ	НПЗ								
0	22,4	14,7	22,4	14,7	22,4	14,7	21,9	14,7	18,7	14,7
1			22,4	14,7	22,4	14,7	20,3	14,7	18,7	14,8
2			22,4	14,7	22,4	14,7	18,7	14,7	18,6	14,8
3					22,4	14,7	18,7	14,7	18,6	14,8
4							18,5	14,7	18,6	14,8
5							18,3	14,7	18,5	14,8
6							18,0	14,7	18,2	14,8
7									18,0	14,8
8									17,9	14,8
9									17,8	14,8

Погодные условия и полное перемешивание воды выравнивали показатели концентрации кислорода на всех станциях и глубинах. Некоторое понижение отмечалось только в подогретых водах на станциях 4 и 5, при этом данные величины не могли быть лимитирующими (табл. 4).

Прозрачность воды определяли по белому диску Секки. Летом эта величина в зоне подогрева составила 4,8 м, на остальной акватории озера – 4,3 м, к осени, несмотря на понижение температуры, прозрачность снизилась на 2 м, составив 2,8–2,9 м. Зарегистрированные значения прозрачности в июне были близки к максимальным для этого водоема, осенние же величины – к среднегодовым для летней межени [1, с. 77].

Для количественной характеристики вертикального размещения производили расчет средней «глубины нахождения», используя заимствованную из работы по вертикальной структуре планктона формулу

$$H = \Sigma(hn) / \Sigma n,$$

где H – средняя «глубина нахождения»; h – глубина отбора; n – численность особей на глубине h .

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

Таблица 4. Изменение концентрации кислорода на станциях в подогреваемой (ПЗ) и непогретаемой (НПЗ) зонах осенью (25.09.2019 г.)

Table 4. Change in oxygen concentration at the stations of the heated and non-heated zones in autumn (25.09.2019)

Глубина, м	Станция 1		Станция 2		Станция 3		Станция 4		Станция 5	
	ПЗ	НПЗ								
0	8,3	8,0	8,1	8,0	8,0	7,9	8,2	8,1	8,1	7,8
1			8,1	8,0	8,0	7,9	7,9	8,1	8,1	7,8
2			8,1	8,0	8,0	7,9	7,9	8,1	8,1	7,8
3					8,0	7,9	7,9	8,1	8,1	7,8
4							7,7	8,1	8,1	7,8
5							7,3	8,1	8,0	7,8
6							6,2	8,1	7,3	7,8
7									7,3	7,8
8									7,3	7,8
9									7,3	7,8

Результаты и их обсуждение. Изменение численности зообентоса. Летом основу численности в обеих зонах составляли двукрылые – чуть более 40 %. В подогретой зоне на втором месте по относительной численности были олигохеты, в непогретой – моллюски. Доля двукрылых оставалась практически постоянной (около 40 %), доля моллюсков вне подогретой акватории выросла от 17 до 36 %, а олигохет снизилась с 29 до 14 % (рис. 1).

Численность в подогреваемой зоне изменялась по станциям в широких пределах – от 34,7 до 5481,5 экз/м² (средняя величина для данной части озера – 2161,1 экз/м²) (рис. 1). Численность зообентоса в непогретаемой зоне была в пределах 242,3–7377,8 экз/м² (средняя величина – 3447 экз/м²). Указанные величины не выходят за пределы приводимых в литературе многолетних значений для всего озера [1]. Вместе с тем средняя величина численности в непогретой зоне оказалась в 1,6 раза выше.

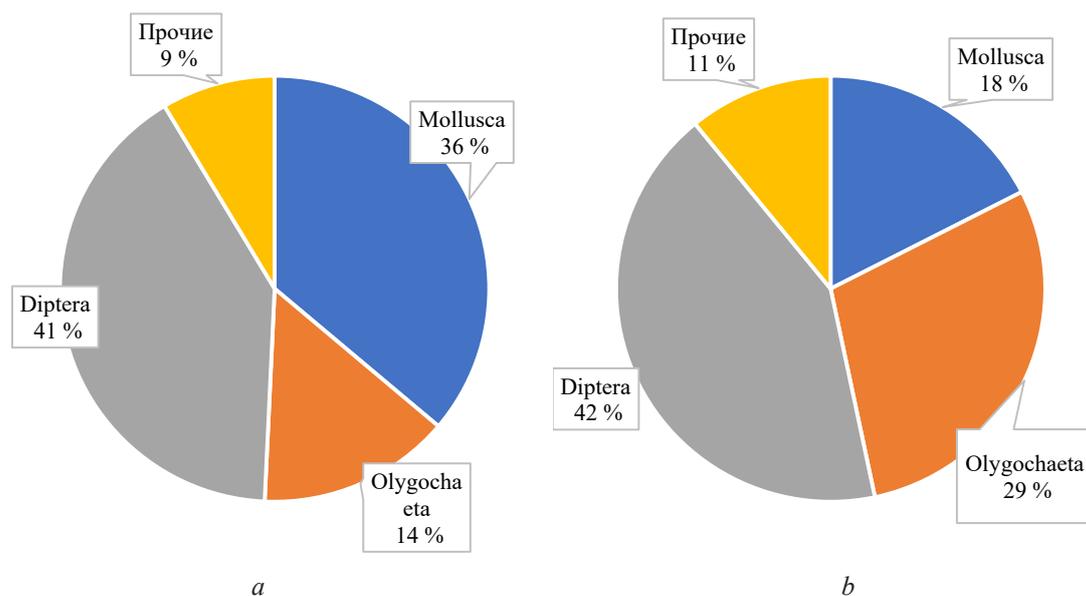


Рис. 1. Соотношение численности основных групп зообентоса в непогретаемой (a) и подогреваемой (b) зонах летом
 Fig. 1. The ratio of the number of the main groups of zoobenthos in non-heated (a) and heated (b) zones in summer

Сравнение численности массовых видов и форм показало (табл. 5), что летом численность олигохетов и личинок *Chironomus gr. plumosus* в подогреваемой зоне была больше, чем других массовых форм, на обилие которых прогрев оказывал отрицательное влияние. При этом в подогреваемой зоне показатели плотности дрейссены были в 3,5 раза меньше. Наибольшая разница (в 27 раз) наблюдалась у другой личинки хирономид – *Polypedilum nubeculosum*. Возможно, это связано с тем, что период отбора проб совпал с вылетом имаго у данного вида, а также со смещением его жизненного цикла вследствие повышения температуры воды. Видимо, по этой же причине генерация *Chironomus gr. plumosus* в подогреваемой зоне была больше, чем в непогрееваемой [12, 13].

Таблица 5. Сравнение численности (экз/м²) массовых видов и форм в непогрееваемой (НПЗ) и подогреваемой (ПЗ) зонах летом

Table 5. Comparison of the number (exp/m²) of mass species and forms in the non-heated and heated zones in summer

Вид	НПЗ	ПЗ	ПНЗ-ПЗ	ПНЗ/ПЗ
<i>Olygochaeta sp.</i>	501,9 ± 54,0	628,5 ± 12,4	-(126,6) ± 41,6	0,8
<i>Chironomus gr. plumosus</i>	224,3 ± 77,2	515,8 ± 65,3	-(291,5) ± 11,9	0,4
<i>Procladius sp.</i>	260,8 ± 40,1	160 ± 37,3	100,8 ± 2,8	1,6
<i>Dreissena polymorpha</i>	1146,7 ± 396,4	328,9 ± 161,6	817,8 ± 234,8	3,5
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	403,0 ± 103,3	14,8 ± 20,7	388,2 ± 82,6	27,2

Большая численность в зоне подогрева этого водоема олигохет *Limnodrilus hoffmeister* и *Bothrioneurum vejvodskyantum* зафиксирована была и ранее при анализе влияния подогрева на зообентос литоральных станций [3]. На увеличение численности *L. hoffmeister* под воздействием подогрева указывается и другими авторами [14, 15]. Считается, что оптимальная температура жизнедеятельности для этих животных выше, чем у остальных, что позволяет им развиваться даже при повышенных температурах.

Распределение общей численности по глубинам в обеих зонах имело сходные черты: в обоих случаях наблюдался рост от литорали до глубины 3 м, а при дальнейшем увеличении глубины шло ее снижение (рис. 2). Различия в распределении бентоса в подогреваемой и непогрееваемой акваториях заключаются только в малом его количестве в литорали (0,5 м) и на глубине 1,5 м вблизи выпуска подогретых вод. Летом поверхностные слои воды здесь прогревались выше температуры 30 °С. По мнению некоторых исследователей, предельной температурой для нормальной жизнедеятельности зообентоса считается 25 °С [16, 17], поэтому недостаточное его развитие здесь могло быть лимитировано высокой температурой. В прибрежье и на глубине 1,5 м на состояние зообентоса может оказывать влияние и создаваемое теплыми водами достаточно сильное течение, которое приводит к размыву грунта, смыву питательных частиц органики и, как следствие, к нарушению местообитаний [16]. Уменьшение численности после глубины 3 м в подогреваемой зоне при благоприятном температурном режиме можно объяснить понижением содержания кислорода к глубине. Такое же снижение численности при постоянстве температуры и дефиците кислорода наблюдается и в непогрееваемой зоне.

Чтобы получить формализованную оценку различий в распределении, нами рассчитана средневзвешенная величина «глубины нахождения» для всего зообентоса. Несмотря на пространственное совпадение максимумов, в подогретой зоне этот показатель составил 4,29, а вне подогретой – 3,65 м (разница – 0,64 м).

Проведенный корреляционный анализ показал, что изменение общей численности по глубинам имеет слабо выраженную отрицательную зависимость от изменения температуры ($r = -0,41$; $p \leq 0,05$), а корреляция между распределением численности и содержанием кислорода статистически незначима.

Картина изменения общей численности с глубиной обуславливается распределением основных групп и доминирующих видов, таких как моллюски (рис. 3), личинки двукрылых и олигохеты.

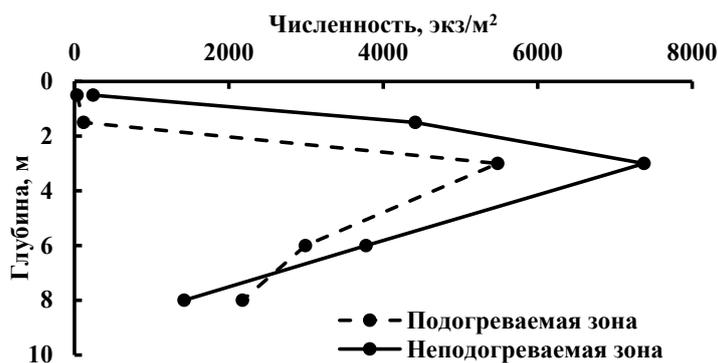


Рис. 2. Изменение численности зообентоса по глубинам в подогреваемой и неподогреваемой зонах летом

Fig. 2. Changes in the number of zoobenthos by depth in the heated and non-heated zones in summer

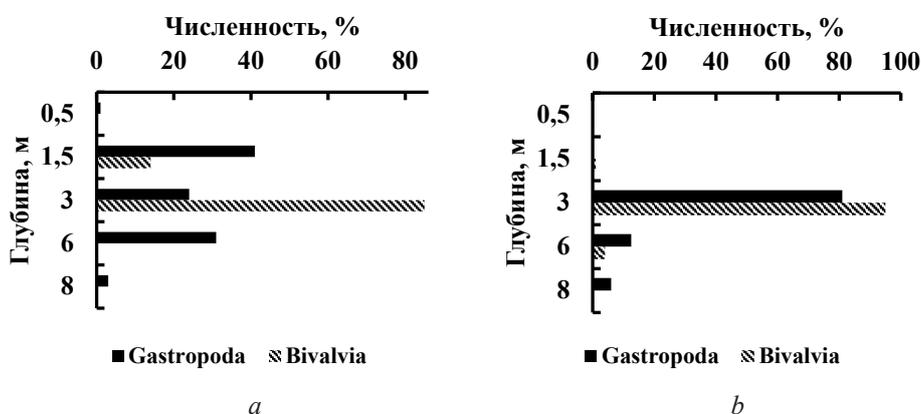


Рис. 3. Распределение численности *Mollusca* по глубинам в неподогреваемой (a) и подогреваемой (b) зонах летом

Fig. 3. Distribution of *Mollusca* abundance by depth in non-heated (a) and heated (b) zones in summer

Из рис. 3 видно, что в летний период численность моллюсков, как и всего зообентоса, увеличивалась от литорали и до глубины 3 м как в подогреваемой, так и в неподогреваемой зоне. Вне подогрева численность моллюсков была выше более чем в 2 раза, чем при подогреве. Возможно, это обусловлено тепловым воздействием, но не исключается влияние степени агрегированности, особенно у дрейссены, на разных участках.

Распределение брюхоногих (*Gastropoda*) моллюсков летом по глубинам на рис. 3 различается визуально: в подогретой зоне максимальная его численность отмечается на глубине 3 м, а далее идет ее снижение. В неподогретой части максимальная его численность отмечается на глубине 1,5 м. Несмотря на наглядные различия на рис. 3, рассчитанные величины близки между собой: в контрольной зоне – 3,4 м, а в подогретой – 3,6 м. Для двухстворчатых (*Bivalvia*), основу которых составляла дрейссена, расположение максимумов совпадало, а средние величины расположения также были незначительными – 0,3 м (2,8 м без подогрева и 3,1 м при подогреве). Таким образом, обе группы моллюсков летом располагаются немного глубже в подогреваемой зоне.

Для подогреваемой зоны была отмечена слабая корреляционная зависимость численности моллюсков от содержания кислорода ($r = 0,48; p \leq 0,05$). Без подогрева их плотность была еще меньше и зависела от содержания растворенного кислорода ($r = 0,35; p \leq 0,05$). В зоне подогрева корреляции распределения численности с температурным фактором не установлено, но в контрольной, неподогретой части, корреляционная зависимость от температуры была достаточно выраженной ($r = 0,51; p \leq 0,05$).

В «мягком» бентосе доминировали представители *Chironomidae* и *Oligochaeta*. Распределение этих групп имело свои особенности: личинки хирономид размещались на всех глубинах, олигохеты избегали подогретого побережья (0,5 м) и на глубине 1,5 м имели малую относительную

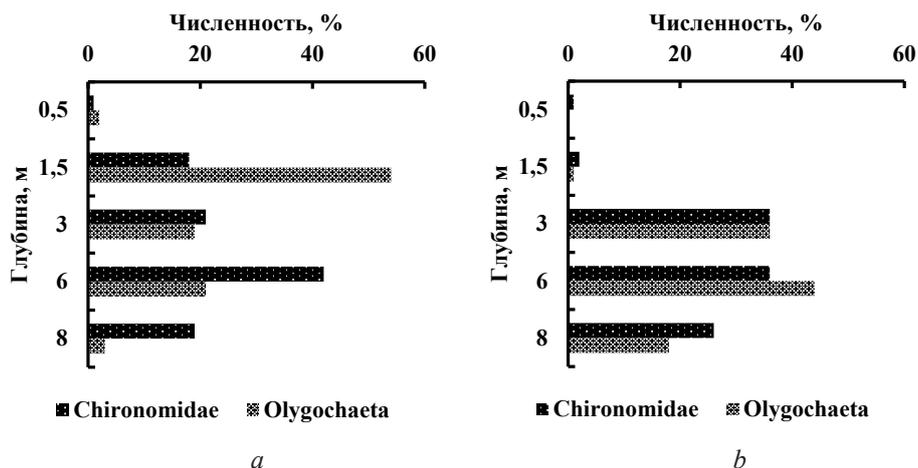


Рис. 4. Распределение численности Chironomidae и Oligochaeta в неподогреваемой (a) и подогреваемой (b) зонах летом

Fig. 4. Population distribution of Chironomidae and Oligochaeta in non-heated (a) and heated (b) zones in summer

численность (рис. 4). Однако взаимное расположение этих групп по глубинам отличалось в подогретой и неподогретой акваториях: наибольшая численность хирономид отмечалась в обеих зонах на глубине 6 м, максимальная численность олигохет в неподогретых водах наблюдалась на глубине 1,5 м, а в подогретых – еще глубже.

При расчете средней величины «глубины нахождения» выяснилось, что личинки хирономид в подогретой зоне размещались глубже: 5,3 м против 4,9 м в контроле. Олигохеты занимали «средние» величины глубины: 5,2 м в подогреваемой зоне и 2,9 м вне зоны подогрева. Таким образом, обе группы располагались, как и моллюски, глубже в подогреваемой зоне, при этом у олигохет разница в средней «глубине нахождения» была значительно больше, чем у хирономид.

Распределение численности хирономид никак не коррелировало с распределением кислорода, а с показателями температуры имело среднюю по силе, отрицательную, статистически незначимую корреляцию ($r = -0,616$; $p \leq 0,05$). Олигохеты, так же как и хирономиды, имели отрицательную корреляцию с температурным показателем ($r = -0,71$; $p \leq 0,05$), а с кислородным – слабую отрицательную корреляцию ($r = -0,36$; $p \leq 0,05$).

Таким образом, летом наблюдались различия между подогреваемой и неподогреваемой акваториями в показателях общей и относительной численности основных групп, а также в их расположении по глубинам. Общая численность в контрольной зоне была больше, чем в подогретой, в 1,6 раза. Из массовых форм в подогретой зоне наблюдалась бóльшая в сравнении с контролем плотность только олигохет и *Chironomus gr. plumosus*. Зообентос располагался неравномерно, максимум плотности в обеих зонах был приурочен к глубине 3 м. Однако в подогретой зоне средняя «глубина расположения» была глубже, чем в контрольной, на 0,64 м, что может свидетельствовать об избегании высокой температуры или отрицательном ее влиянии при подогреве.

Осенью соотношения основных групп по численности в подогреваемой и неподогреваемой зонах различаются между собой больше, чем летом (рис. 5). В сравнении с летом в подогретой зоне выросла доля олигохет и снизилась доля двукрылых и моллюсков. В зообентосе подогретой акватории осенью преобладали олигохеты (55 %) и двукрылые (34 %). В ненарушенных условиях наблюдалось более равномерное соотношение этих групп: 14 и 21 % соответственно, а на первое место вышли моллюски (34 %). Наблюдаемое в контрольной акватории снижение относительной численности двукрылых осенью, возможно, связано с вылетом имаго у хирономид.

Общая численность зообентоса в подогреваемой зоне изменялась в очень широких пределах – от 5,8 до 1947,4 экз/м² (средняя численность по всем глубинам для данной части озера – 1018,8 экз/м²), в контрольной акватории она была в диапазоне 312–6103,7 экз/м² (средняя численность более чем в 2 раза превышала аналогичный показатель подогреваемой зоны, равный

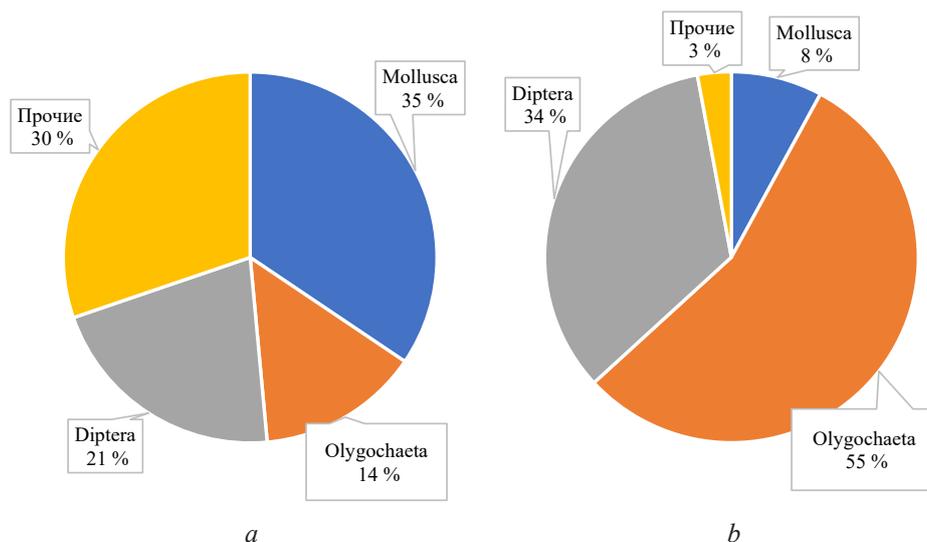


Рис. 5. Соотношение численности основных групп в непогреваемой (а) и поогреваемой (b) зонах осенью

Fig. 5. The ratio of the number of the main groups in non-heated (a) and heated (b) zones in autumn

2340,9 экз/м²). Таким образом, в сравнении с летом разница в средних показателях численности зообентоса в поогреваемой и контрольной зонах выросла в 2,3 раза.

При этом в сравнении с летом общая численность зообентоса осенью снизилась: в поогреваемой зоне – более чем в 2 раза, в непогреваемой – в 1,5. Осенью все массовые виды – дрейссена и личинки хирономид – в поогреваемой зоне имели меньшую численность, чем в контроле (табл. 6). Температурный режим в это время года не был лимитирующим фактором, как и содержание кислорода. Поэтому на соотношение численности личинок хирономид в это время могла повлиять разница в сроках вылета имаго при разном поогреве. Наблюдаемые же осенью максимальные значения различий у *Dreissena polymorpha* на одинаковых глубинах отбора трудно объяснить, учитывая приуроченность этого моллюска к определенным глубинам [18]. На полученные величины могла повлиять неравномерность распределения моллюска по глубинам и различная степень его агрегированности в разных зонах. Как и летом, большую численность при поогреве имели только олигохеты.

Таблица 6. Сравнение численности (экз/м²) массовых видов и форм в непогреваемой (НПЗ) и поогреваемой (ПЗ) зонах осенью

Table 6. Comparison of the number (exp/m²) of mass species and forms in the non-heated and heated zones in autumn

Вид	НПЗ	ПЗ	ПНЗ-ПЗ	ПНЗ/ПЗ
<i>Olygochaeta sp.</i>	329,4 ± 50,4	560,5 ± 101,7	-(231,1 ± 51,3)	0,6
<i>Chironomus gr. plumosus</i>	162,9 ± 37,8	68,1 ± 19,9	94,8 ± 17,9	2,4
<i>Procladius sp.</i>	154,1 ± 36,1	56,3 ± 11,2	97,8 ± 24,9	2,7
<i>Dreissena polymorpha</i>	745,6 ± 205,8	14,8 ± 20,7	730,8 ± 185,1	50,4
<i>Polypedilum nubeculosum</i>	70,1 ± 18,9	38,5 ± 13,0	31,6 ± 15,9	1,8

Общий характер распределения по глубине сохранился и осенью, при этом кривые отличались по абсолютным значениям и расположению максимумов численности (рис. 6). Изменение численности в поогреваемой зоне отличалось от летнего: осенью рост шел от литоральной зоны до глубины 6 м, что обеспечивалось достаточно благоприятными кислородным (от 6,2 до 8,2 мг/л) и температурным (от 18,0 до 24,6 °C) режимами. Несмотря на подходящие кислородные и температурные условия, после глубины 6 м продолжался спад численности. По нашему мнению, схожее с летним распределение зообентоса осенью сохранилось за счет инертности и малой подвижности бентоса.

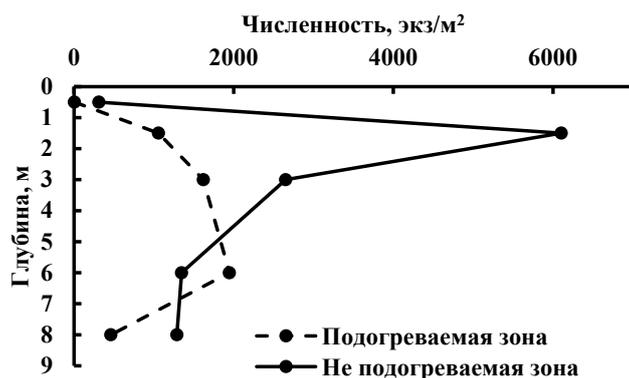


Рис. 6. Изменение общей численности зообентоса в зависимости от глубины в подогреваемой и непогрееваемой зонах осенью

Fig. 6. Changes in the total number of zoobenthos with depth in the heated and non-heated zones in autumn

Рассчитана общая численность «глубины расположения» осенью: в подогретой зоне – 4,29 м, в непогретой – 3,05 м (разница – 1,24 м). В сравнении с летом в подогреваемой части эта величина не изменилась, а вне подогрева стала меньше на 0,60 м. Зависимости распределения численности по глубине от температуры воды и концентрации растворенного кислорода осенью не обнаружено в связи с незначительностью изменений в эту пору года (см. табл. 3, 4).

У брюхоногих и двустворчатых моллюсков отмечались различия в распределении по глубинам (рис. 7). В целом для Gastropoda по значениям «глубины нахождения» наблюдалось «продвижение» численности к литорали в контрольной зоне, где значения были 2,9 м против 3,8 м при подогреве. У двустворчатых моллюсков, основу которых составляет дрейссена, при отсутствии подогрева также отмечалось «смещение» средней глубины в прибрежье (с 6 до 2 м). Если летом двустворчатые размещались в обеих зонах преимущественно на глубине 3 м, то вопрос осеннего их распределения при фактическом отсутствии влияния температуры требует дальнейшего детального изучения.

В осенний период в мягком бентосе превосходство имели олигохеты. В прибрежье подогретой зоны эти животные отсутствовали. Как и летом, максимальная их плотность была на глубине 6 м (рис. 8). Несмотря на разный характер распределения олигохет осенью, средние величины оказались близкими: при подогреве – 4,2 м, без подогрева – 4,3 м. По сравнению с летом «глубина нахождения» в подогретой зоне стала ровно на 1 м меньше, а в непогретой, наоборот, на 1,4 м глубже.

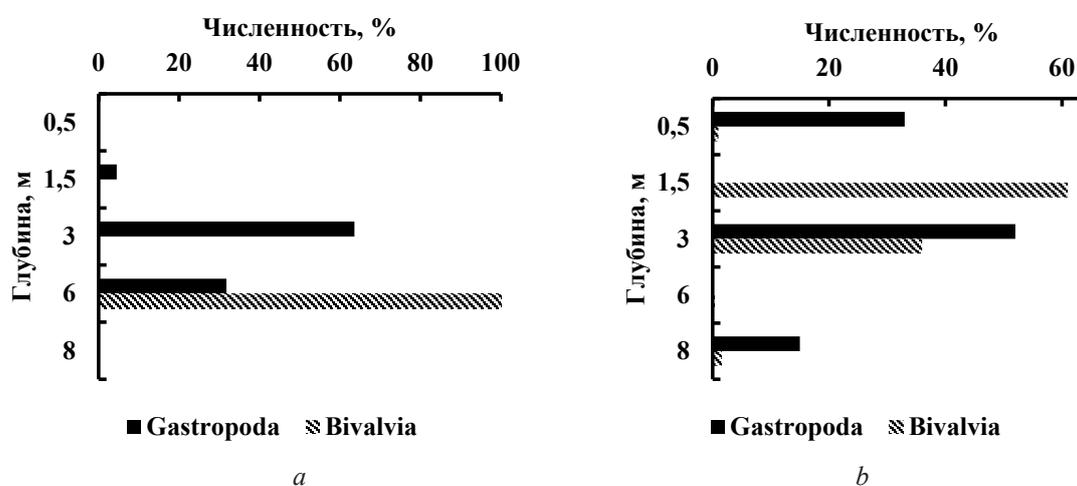


Рис. 7. Распределение численности *Mollusca* по глубинам в непогрееваемой (a) и подогреваемой (b) зонах осенью

Fig. 7. Distribution of *Mollusca* abundance by depth in non-heated (a) and heated (b) zones in autumn

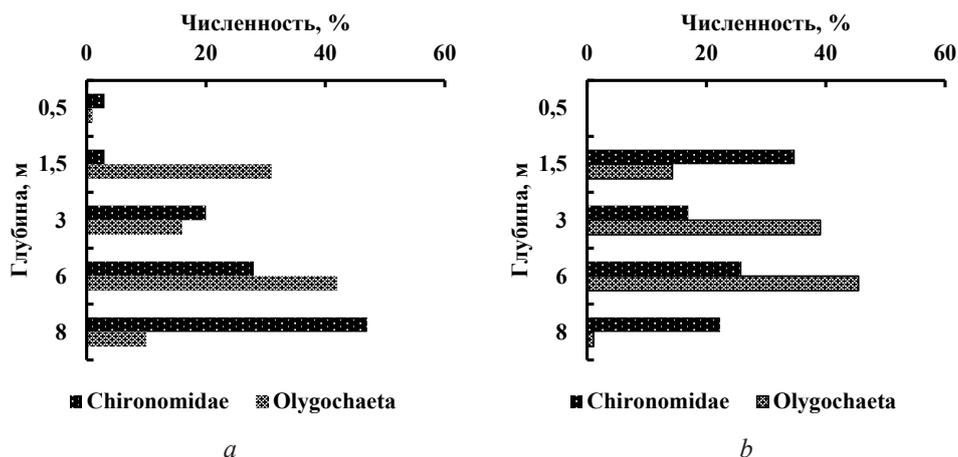


Рис. 8. Распределение численности Chironomidae и Olygochaeta в неподогреваемой зоне (слева) и подогреваемой (справа) зонах осенью

Fig. 8. Population distribution of Chironomidae and Olygochaeta in the non-heated zone (left) and the heated zone (right) in autumn

У личинок хирономид максимум относительной численности осенью в контрольной зоне переместился с глубины 3 м на глубину 1,5 м (рис. 4, 8). Однако расчет средневзвешенной абсолютной численности в неподогреваемой акватории, наоборот, показал увеличение глубины нахождения этой группы на 1,2 м по сравнению с летом. При таком же расчете данного показателя в подогреваемой зоне, наоборот, отмечалось «перемещение» средней численности в прибрежье на 1 м.

Анализ средней «величины нахождения» хирономид показал, что осенью в подогретой зоне его величина составила 4,3 м, в контрольной – 6,1 м (разница 1,8 м). Летом разница была незначительной – только 0,4 м, а в подогретой зоне личинки располагались глубже. Перемещение в этой зоне на меньшие глубины осенью логично объяснить снятием лимитирования из-за высокой температуры. Наблюдаемое «перемещение» осенью личинок хирономид на большие глубины в контрольной зоне при полной гомотермии и высокой насыщенности кислородом всех слоев воды, возможно, происходило не только за счет миграции [19], но и за счет заселения глубоководных станций, на которых у животных новой осенней генерации летом наблюдался дефицит кислорода [20].

Осенью статистически значимой корреляции между изменением численности хирономид и олигохет, температурой и содержанием кислорода не обнаружено из-за незначительного изменения этих параметров. Характер изменений в зависимости от глубины у этих групп отличался в сравнении с летом. В подогреваемой акватории в осеннее время при отсутствии лимитирования температурой они располагались на меньших глубинах, но не в бедной органикой литорали. При одинаковых значениях температуры и растворенного кислорода по глубинам осенью в контрольной зоне у хирономид отмечался рост плотности к максимальной глубине, то же наблюдалось и у олигохет, но до глубины 6 м.

Таким образом, в подогреваемой зоне в оба сезона наблюдались пониженные значения численности зообентоса, что частично можно объяснить влиянием высокой температуры. Подогрев оказывал отрицательное влияние на численность основных групп зообентоса и его массовые виды, за исключением олигохет. Соотношения численности основных групп зообентоса между подогреваемой и контрольной зонами, а также в сезоне, отличались, что обусловлено, вероятно, вылетом амфибионтных насекомых. В целом в характере распределения численности по глубинам в озере в разные сезоны года и при разной тепловой нагрузке не имелось отличий: с мелководья шел рост до определенной глубины, а затем снижение ко дну. Снижение численности наблюдалось в подогреваемой прибрежной зоне за счет смыва донных отложений подогретыми водами, под влиянием высокой температуры летом, а в придонных слоях воды – из-за малого количества кислорода.

Заключение. Средняя численность зообентоса как в летний, так и в осенний период была пониженной в подогреваемой части водоема (снижение летом в 1,6 раза, осенью – в 2,3 раза). Понижение численности в зоне подогрева происходило за счет основных групп зообентоса и массовых видов, кроме олигохет, у которых наблюдалась обратная тенденция – их плотность в оба сезона года была выше в подогреваемой зоне.

В характере распределения общей численности по глубине в разные сезоны года и при разной тепловой нагрузке не имелось отличий: с мелководья шел рост до определенной глубины, а затем снижение ко дну. Высокая температура и наличие течения ограничивали развитие зообентоса в подогреваемой прибрежной зоне, особенно летом. Низкие значения численности у дна на самых глубоких станциях летом были обусловлены недостатком растворенного кислорода, а осенью, в конце сентября, еще частично сохранялся летний характер распределения.

Зависимость распределения у всех основных групп зообентоса, кроме моллюсков, от температуры и кислорода в летний период исследования статистически не подтверждается. Достоверным было летнее распределение моллюсков в зависимости от температуры и только в непогреваемой зоне.

Благодарности. Авторы выражают благодарность члену-корреспонденту НАН Беларуси, заведующему лабораторией гидробиологии В. П. Семенченко и ведущему научному сотруднику сектора мониторинга и кадастра животного мира Ю. Г. Гигиняку за ценные советы и замечания при написании статьи.

Acknowledgements. The authors are grateful to the Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Hydrobiology Laboratory V. P. Semenchenko and the Leading Researcher of the Sector of monitoring and cadaster of the animal world Yu. G. Giginyak for valuable advice and comments when writing the article.

Список использованных источников

1. Экосистема водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС / П. А. Митрахович и [др.]. – Минск : Право и экономика, 2008. – 143 с.
2. Каратаев, А. Ю. Влияние подогрева на комплекс беспозвоночных литорали водоема-охладителя ТЭС оз. Лукомского / А. Ю. Каратаев // Биология внутренних вод. Информ. бюл. № 80. – 1988. – С. 32–35.
3. Каратаев, А. Ю. Влияние сброса теплых вод на макрозообентос литорали водоема-охладителя / А. Ю. Каратаев, И. В. Каратаева // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. Химия, биология, география. – 1987. – № 1. – С. 46–49.
4. Karataev, A. Yu. Some patterns of the vertical distribution of macrozoobenthos in the littoral zone of thermal power plant's cooling reservoirs / A. Yu. Karataev, I. V. Karataeva // Hydrobiol. J. – Vol. 27, N 2. – P. 19–26.
5. Лапука, И. И. Таксономическая структура зообентоса подогреваемой и непогреваемой зон водоема-охладителя Лукомльской ГРЭС / И. И. Лапука, В. В. Вежновец, А. А. Шкуте // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 53–63.
6. Качалова, О. Л. Отряд ручейники Trichoptera / О. Л. Качалова // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. Планктон и бентос / отв. ред. : Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов. – Л., 1977. – С. 477–510.
7. Лукин, Е. И. Класс пиявки Hirudinea / Е. И. Лукин // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. Планктон и бентос / отв. ред. : Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов. – Л., 1977. – С. 201–212.
8. Попова, А. Н. Отряд стрекозы Odonata / А. Н. Попова // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР. Планктон и бентос / отв. ред. : Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов. – Л., 1977. – С. 266–287.
9. Макаренченко, Е. А. Семейство комары звонцы Chironomidae / Е. А. Макаренченко // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / под ред. С. Я. Цалохина. – СПб., 1999. – Т. 4 : Высшие насекомые. Двукрылые. – С. 210–296.
10. Богатов, В. В. Класс Двустворчатые моллюски / В. В. Богатов, П. В. Кияшко // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России / под ред. В. Р. Алексеева, С. Я. Цалохина. – М. ; СПб., 2016. – Т. 2 : Зообентос. – С. 285–335.
11. Кияшко, П. В. Класс Брюхоногие моллюски / П. В. Кияшко, Е. В. Солдатенко, М. В. Винарский // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России / под ред. В. Р. Алексеева, С. Я. Цалохина. – М. ; СПб., 2016. – Т. 2 : Зообентос. – С. 335–439.
12. Шаронов, И. В. Личинки тендипедид озера Севан (биология и биомасса) / И. В. Шаронов // Тр. Севан. гидробиол. ст. – 1951. – Т. 12. – С. 35–92.
13. Линевиц, А. А. К биологии комаров семейства Tendipedidae / А. А. Линевиц // Биология беспозвоночных Байкала / отв. ред. Г. И. Галазий. – М. ; Л., 1963. – Т. 1 (21), ч. 2. – С. 1–48.

14. Пидгайко, М. Л. Продуктивность донной фауны водоемов-охладителей тепловых электростанций на юге Украины / М. Л. Пидгайко, Л. А. Кितिцына // Вопросы рыбохозяйственного освоения и санитарно-биологического режима водоемов Украины : материалы докл. II Респ. конф. Укр. филиала Всесоюз. гидробиол. о-ва (май 1970 г.) : в 2 ч. / отв. ред. Я. Я. Цееб. – Киев, 1970. – Ч. 1. – С. 93–94.
15. Howells, G. D. The effects of power station cooling water discharges on aquatic ecology / G. D. Howells // *Water Pollut. Control.* – 1983. – Vol. 82, N 1. – P. 10–16.
16. Мордухай-Болтовской, Ф. Д. Проблема влияния тепловых и атомных электростанций на гидробиологический режим водоемов / Ф. Д. Мордухай-Болтовской // *Тр. Ин-та биол. внутр. вод АН СССР.* – 1975. – Вып. 27 (30). – С. 7–69.
17. 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.
18. Каратаев, А. Ю. Воздействие подогрева на пресноводные экосистемы / А. Ю. Каратаев. – Минск, 1990. – 132 с. Деп. в ВИНТИ 07.05.1990. – № 2440-90.
19. Садырин, В. М. Суточные изменения видовой, размерной и трофической структуры в сообществе фитофильных хирономид / В. М. Садырин // *Бюл. Моск. о-ва испытателей природы, отд. биол.* – 2012. – Т. 117, № 4. – С. 77–80.
20. Состав, распределение и сезонная динамика численности и биомассы бентоса / Н. Ю. Соколова [и др.] // *Бентос Учинского водохранилища : сб. ст. / отв. ред. Г. Г. Винберг.* – М., 1980. – С. 7–23.

References

1. 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, Pravo i ekonomika Publ., 2008. 143 p. (in Russian).
2. Karataev A. Yu. Effect of heating on the invertebrates of the littoral of the thermal power plant's cooling reservoir of Lake Lukomskoe. *Biologiya vnutrennikh vod* [Biology of inland waters], 1988, no. 80, pp. 32–35 (in Russian).
3. Karataev A. Yu., Karataeva I. V. Effect of heating waters on macrozoobenthos of the littoral of the cooling water reservoir. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2. Khimiya, biologiya, geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2. Chemistry, biology, geography], 1987, no. 2, pp. 46–49 (in Russian).
4. Karataev A. Yu., Karataeva I. V. Some patterns of the vertical distribution of macrozoobenthos in the littoral zone of thermal power plant's cooling reservoirs. *Hydrobiological Journal*, vol. 27, no. 2, pp. 19–26.
5. Lapuka I. I., Vezhnovets V. V., Shkuta A. A. Effect of heating on the taxonomic structure of the zoobenthos of the Lukomlskaya GRES cooling reservoir. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 53–63 (in Russian).
6. Kachalova O. L. Trichoptera. *Determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR. Plankton and benthos.* Leningrad, 1977, pp. 477–510 (in Russian).
7. Lukin E. I. Hirudinea. *Determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR. Plankton and benthos.* Leningrad, 1977, pp. 201–212 (in Russian).
8. Popova A. N. Odonata. *Determinant of freshwater invertebrates of the European part of the USSR. Plankton and benthos.* Leningrad, 1977, pp. 266–287 (in Russian).
9. Makarchenko E. A. Chironomidae. *Determinant of freshwater invertebrates in Russia and neighboring territories. Vol. 4. Higher insects.* Saint Petersburg, 1999, pp. 210–296 (in Russian).
10. Bogatov V. V., Kiyashko P. V. Bivalve molluscs. *Determinant of zooplankton and zoobenthos in fresh waters of European Russia. Vol. 2. Zoobenthos.* Moscow, Saint Petersburg, 2016, pp. 285–335 (in Russian).
11. Kiyashko P. V., Soldatenko E. V., Vinarskii M. V. Gastropods. *Determinant of zooplankton and zoobenthos in fresh waters of European Russia. Vol. 2. Zoobenthos.* Moscow, Saint Petersburg, 2016, pp. 335–439 (in Russian).
12. Sharonov I. V. Tendipedid larvae of Lake Sevan (biology and biomass). *Trudy Sevanskoj gidrobiologicheskoi stantsii* [Proceedings of the Sevan hydrobiological station], 1951, vol. 12, pp. 35–92 (in Russian).
13. Linevich A. A. On the biology of mosquitoes of the Tendipedidae family. *Biology of Invertebrates of Baikal.* Moscow, Leningrad, 1963, vol. 1 (21), pt. 2, pp. 1–48 (in Russian).
14. Pidgaiko M. L., Kititsyna L. A. Productivity of the bottom fauna of cooling ponds of thermal power plants in the south of Ukraine. *Voprosy rybokhozyaistvennogo osvoeniya i sanitarno-biologicheskogo rezhima vodoemov Ukrainy: materialy dokladov II Respublikanskoj konferentsii Ukrainського filiala Vsesoyuznogo gidrobiologicheskogo obshchestva (mai 1970 goda). Chast' I* [Issues of fishery development and sanitary-biological regime of water bodies of Ukraine: materials of reports of the II Republican conference of the Ukrainian branch of the All-Union hydrobiological society (May 1970). Pt. 1]. Kiev, 1970, pp. 93–94 (in Russian).
15. Howells G. D. The effects of power station cooling water discharges on aquatic ecology. *Water Pollution Control*, 1983, vol. 82, no. 1, p. 10–16.
16. 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).
17. 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).

18. Karataev A. Yu. *Impact of heating on freshwater ecosystems*. Minsk, 1990. 132 p. (in Russian).

19. Sadyrin V. M. Diurnal changes in the species, size, and trophic structure in the community of phytophilic chironomids. *Bulleten' Moskovskogo obshchestva ispytatelei prirody. Otdel biologicheskii* [Bulletin of the Moscow Society of Naturalists. Biological department], 2012, vol. 117, no. 4, pp. 77–80 (in Russian).

20. Sokolova N. Yu., Izvekova E. I., L'vova A. A., Sakharova M. I. Composition, distribution and seasonal dynamics of abundance and biomass of benthos. *Bentos Uchinskogo vodokhranilishcha: sbornik statei* [Benthos of the Uchinsky reservoir: a collection of articles]. Moscow, 1980, pp. 7–23 (in Russian).

Информация об авторах

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

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

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.lapua@yandex.ru

Vasili V. Vezhnavets – 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 599.323.43.088.7:591.813(476)

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-475-481>

Поступила в редакцию 13.05.2021

Received 13.05.2021

Е. И. Машков, Е. С. Гайдученко

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

КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ РОДА *MICROTUS* НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ: ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ

Аннотация. В работе приводятся оригинальные данные хромосомного и молекулярно-генетического (метод ПЦР-типирования) анализа криптических видов рода *Microtus* на территории Беларуси.

Целью исследования являлось проведение хромосомной маркировки популяций обыкновенной полевки в 20 различных локалитетах на территории Беларуси для выявления в природных экосистемах видов-двойников *Microtus arvalis* s. l. Кариологический анализ позволил выявить на исследуемой территории двух представителей криптической группы: восточноевропейскую полевку ($2p = 54$, $NF = 56$) и обыкновенную полевку ($2p = 46$, $NF = 86$). Для подтверждения видовой принадлежности видов-двойников методом ПЦР-типирования проведен молекулярно-генетический анализ. Установлено, что одна исследуемая особь из криптической группы *Microtus arvalis* s. l. относится к виду *Microtus rossiaemeridionalis*, о чем свидетельствует наличие амплифицированного фрагмента митохондриального гена цитохрома *b* размером в 469 пар нуклеотидов (п. н.). У остальных особей ($n = 105$) обнаружен амплифицированный фрагмент митохондриального гена цитохрома *b* размером 842 п. н., что подтверждает принадлежность данных представителей к *Microtus arvalis* формы «arvalis».

Ключевые слова: *Microtus arvalis*, *Microtus rossiaemeridionalis*, виды-двойники, ПЦР-типирование, хромосомы, криптические виды

Для цитирования: Машков, Е. И. Криптические виды рода *Microtus* на территории Беларуси: таксономическое положение и распространение / Е. И. Машков, Е. С. Гайдученко // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 475–481. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-475-481>

Yauheni I. Mashkou, Helen S. Gaiduchenko

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

CRYPTIC SPECIES OF THE GENUS *MICROTUS* ON THE TERRITORY OF BELARUS: TAXONOMIC POSITION AND DISTRIBUTION

Abstract. The paper presents the original data of the chromosomal and molecular-genetic (by PCR typing) analysis of cryptic species of the genus *Microtus* on the territory of Belarus.

The aim of the study is to perform chromosomal labeling of common vole populations in various localities in Belarus to identify *Microtus arvalis* s. l. twin species in natural ecosystems. Based on the karyological analysis, 2 representatives of the cryptic group were identified in the study area: the Eastern European vole ($2p = 54$, $NF = 56$) and the common vole ($2p = 46$, $NF = 86$). Also, to confirm the species identity of the twin species, a molecular genetic analysis was performed by PCR typing. It was established that one studied individual from the cryptic group *Microtus arvalis* s. l. belongs to the species *Microtus rossiaemeridionalis*. A fragment of the *cyt b* mitochondrial gene was amplified in the size of 469 bp in the remaining individuals ($n = 105$), and a fragment of the cytochrome *b* mitochondrial gene in the size of 842 was amplified, which indicates that these representatives belong to the *Microtus arvalis* form “arvalis”. In conclusion, the results of the work done are summed up, and tasks are set for further research of cryptic species of the genus *Microtus* in Belarus.

Keywords: *Microtus arvalis*, *Microtus rossiaemeridionalis*, twin species, PCR typing, chromosomes, cryptic species

For citation: Mashkou Ya. I., Gaiduchenko H. S. Cryptic species of the genus *Microtus* on the territory of Belarus: taxonomic position and distribution. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 475–481 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-475-481>

Введение. В фауне Беларуси, по имеющимся данным, группа обыкновенных полевок (*arvalis*) представлена двумя видами: обыкновенной *Microtus arvalis* Pallas, 1779 ($2p = 46$, $NF = 86$) и восточноевропейской *Microtus rossiaemeridionalis* Ognev, 1924 (= *Microtus subarvalis*, = *epiroticus*, = *levis*) ($2p = 54$, $NF = 56$). Исследования, проведенные на территории Беларуси в 1979–1983 гг.

[1–3], позволили установить присутствие восточноевропейской полевки в следующих зонах республики: **северной** (г. п. Нарочь, Мядельский район; д. Полудетки, Витебский район; Березинский биосферный заповедник), **центральной** (агр. Озерцо и д. Ельница, окраины г. Минска; г. Столбцы; г. Старые Дороги; пос. Рудня, Смолевичский район; г. Лида; д. Красница и д. Кладково, Чаусский район) и **южной** (д. Терebenь, Пинский район; г. Ельск; д. Комаровичи, Петриковский район). В местах обнаружения восточноевропейской полевки присутствие вида-двойника не выявлено, кроме двух точек исследования (окр. г. Старые Дороги и пос. Нарочь Минской области), где совместно обитали оба криптических вида. Видовая идентификация проводилась с помощью цитогенетического метода (анализ кариотипа) [1, 2].

Повторные исследования по изучению распространения криптических видов рода *Microtus* начались в 2016 г. [4]. Было исследовано более 20 районов на территории Беларуси. В отловленных выборках присутствовал только один криптический вид – *Microtus arvalis* s. l. (обыкновенная полевка).

В дальнейшем нами исследовано 35 административных районов (восточная, южная, центральная и частично северная части Беларуси) [4, 5], в ходе которых были произведены также повторные отловы в ранее исследуемых В. Ф. Терехович и Н. В. Манохиной местах [1, 3]. По результатам проведенных нами работ во всех локалитетах установлено присутствие только обыкновенной полевки.

Целью исследования являлось проведение хромосомной маркировки популяций обыкновенной полевки в ранее не исследованных районах на территории Беларуси для выявления в природных экосистемах видов-двойников *Microtus arvalis* s. l.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования были мелкие млекопитающие, отловленные в 2020 г. в 28 административных районах Беларуси. Отлов осуществляли с помощью живоловушек трапикового типа. Учет проводили по стандартной методике методом ловушко-суток [6]. Ловушки расставляли в линию по 25–50 штук, на расстоянии 5 м друг от друга.

Учетные ловы в данный период исследования проводили в луговых экосистемах. В качестве мест проведения исследования были выбраны биотопы, часто упоминаемые другими авторами как места обитания восточноевропейской полевки [1, 7, 8]. К таким биотопам можно отнести сухие возвышенные участки пашен, заросли сорняков, посадки древесных пород (особенно сосен), травянистые участки в разреженных лугах, сады и обочины дорог.

Анализ соматических хромосом полевок проводился на препаратах клеток костного мозга и селезенки по общепринятой методике воздушно-высушенных препаратов с предварительным введением 4 %-ного раствора колхицина [9].

Для проведения молекулярно-генетической диагностики видов-двойников обыкновенной полевки была использована методика ПЦР-типирования [10]. Данная методика определения видовой принадлежности позволяет различать виды-двойники без секвенирования [11].

Предварительно пробы тканей (печени, почек, хвоста, диафрагмальной мускулатуры) серых полевок фиксировали в 96 %-ном этиловом спирте.

Согласно методике ПЦР-типирования, для амплификации митохондриального гена *cyt b* были использованы праймеры cbMO 604F (5'-ССТТССАСТТТТТТСТАССТ-3'), cbMA 842F (5'-GGGGTTТАСТАТGGСТСА-3'), cbMR 469F (5'-CAGTCAAAGACTTCTTAGGG-3'), а затем смесь указанных выше праймеров с обратным праймером H15915-SP (5'-ТТСАТТАСТGGТТТАСАAGАС-3') [10]. При этом у разных особей криптических видов выявлены амплифицированные фрагменты митохондриального гена *cyt b* разной длины [11]: у особей формы *arvalis* – размером 842 п. н., у особей формы *obscurus* – размером 604 п. н., у представителей *M. rossiaemeridionalis* – размером 469 п. н.

Для амплификации использовали следующий режим: 1 цикл первоначальной денатурации при 94 °С (3 мин); 35 циклов с денатурацией при 94 °С (30 с), отжиг праймера при 50 °С (30 с), достройка цепи при 72 °С (1 мин); заключительный цикл при 72 °С (10 мин).

Результаты и их обсуждение. В совокупной выборке ($n = 106$) *Microtus arvalis* s. l. из 20 локалитетов исследования выявлено обитание двух криптических видов из рода *Microtus*: *Microtus arvalis* формы «*arvalis*» и *Microtus rossiaemeridionalis*.

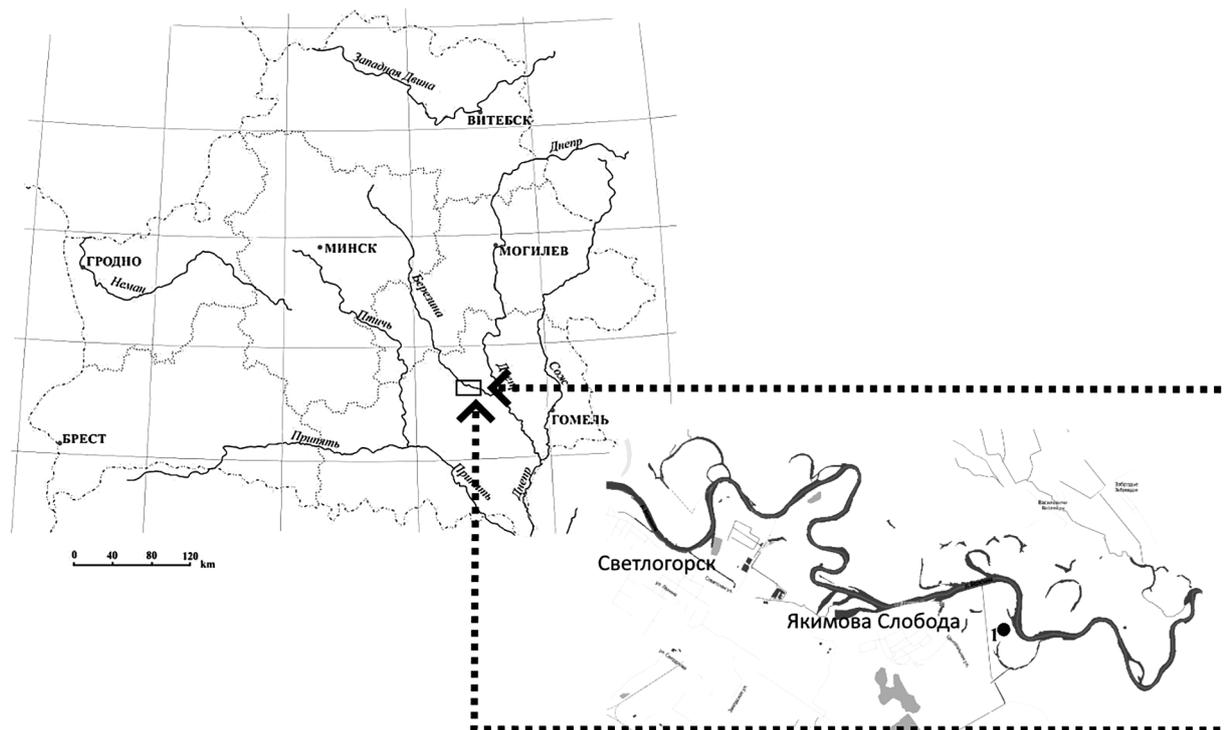


Рис. 1. Место находки *Microtus rossiaemeridionalis* на территории Гомельской области Светлогорского района, д. Якимова Слобода

Fig. 1. *Microtus rossiaemeridionalis* was found on the territory of the Gomel region, Svetlogorsk district, Yakimova Sloboda village

С использованием кариологического метода проанализировано 34 особи. Присутствие обыкновенной полевки отмечено на территории 11 административных районов. Восточноевропейская полевка была обнаружена только в одном регионе исследования – Светлогорском районе (рис. 1). Кроме того, в данном районе исследования нами отмечено совместное обитание видов-двойников (ранее на территории Беларуси обнаружено только два места совместного обитания) [3].

В 2020 г. обилие обыкновенной полевки в луговых экосистемах варьировалось в зависимости от сезона и составило от 2,5 особи в середине лета (июль) (Воложинский район) до 15,5 особи в середине осени (Хойникский район) на 100 ловушко-суток (л.-с.).

В исследуемых экосистемах обыкновенная полевка чаще всего была представлена доминирующим видом на суходольном внепойменном лугу (2,3–7,14 особи, в среднем 5,0 особи на 100 л.-с.). В остальных луговых формациях она представлена равнозначно с другими видами (в среднем 1,25 особи на 100 л.-с. на внепойменном низинном лугу, 2,6 особи на 100 л.-с. на пойменном лугу и 1,1 особи на 100 л.-с. в экотоне).

В Светлогорском районе, где выявлено совместное обитание видов-двойников, отловы производили в конце летнего сезона 2020 г., при этом обилие обыкновенной и восточноевропейской полевки составило 3,5 и 1,0 особи соответственно на 100 л.-с.

Для проведения кариологического анализа *M. arvalis* и *M. rossiaemeridionalis* использовали препараты клеток костного мозга и селезенки. В хромосомном наборе самца *M. rossiaemeridionalis* было обнаружено характерное количество аутосом для данного вида: 25 пар больших и малых акроцентриков (а) и 1 пара маленьких метацентриков (m). Также у данного самца имелась одна акроцентрическая X-хромосома и одна акроцентрическая Y-хромосома. Такой кариотип выявлен у особи из Светлогорского района ($2n = 54$, $NF = 56$) (рис. 2, A).

Для большинства обыкновенных полевки был характерен следующий кариотип: 5 крупных аутосом (A), из которых 4 пары – метацентрические (M) и 1 пара – субтелоцентрики (S), 17 пар мелких аутосом (13 пар мета-субметацентриков (m) и 4 пары акроцентриков (a) ($2n = 46$, $NF = 84$) (рис. 2, B).

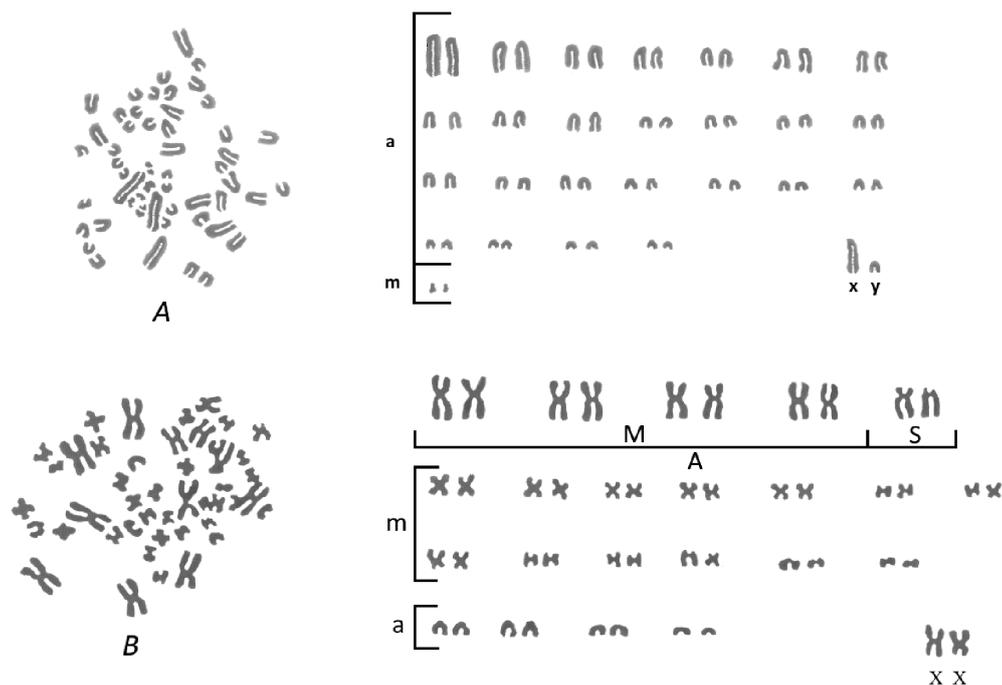


Рис. 2. Кариотип восточноевропейской и обыкновенной полевок: *A* – самец с нормальным кариотипом $2n = 54$, $NF = 56$ (205.1-20Б, Светлогорский район, Гомельская область); *B* – самка с нормальным кариотипом $2n = 46$, $NF = 84$ (19Б-240, Воложинский район, Минская область). а – акроцентрики, м – метацентрики, X, Y – половые хромосомы [7]

Fig. 2. Karyotype of Eastern European and common vole: *A* – male with normal karyotype $2n = 54$, $NF = 56$ (205.1-20B, Svetlogorsk district, Gomel region); *B* – female with normal karyotype $2n = 46$, $NF = 84$ (19B-240, Volozhinsky district, Minsk region). а – acrocentrics, m-metacentrics, X, Y – sex chromosomes [7]

Однако в исследуемых выборках из Мозырского и Березовского районов, где ранее не проводились кариологические исследования, был обнаружен рекомбинантный кариотип у самца 20Б-248 (Мозырский район) и у самки 20Б-460 (Березовский район). В хромосомном наборе из присутствующих 17 пар мелких аутосом 12 пар – мета-субметацентрики (m) и 5 пар – акроцентрики (a) ($2n = 46$, $NF = 82$).

Современные молекулярно-генетические методы позволяют более эффективно и точно проводить видовую идентификацию, что особенно актуально в случае с криптическими видами. Из данных методов наиболее удобным и дешевым является метод ПЦР-типирования, который

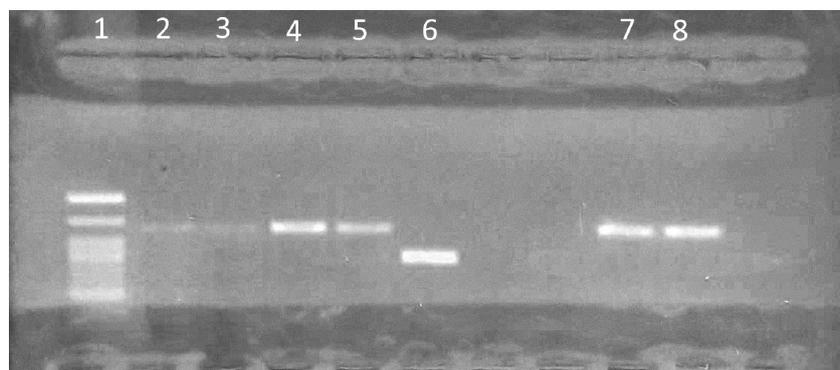


Рис. 3. Электрофореграмма фрагментов ДНК, полученных ПЦР-типированием по фрагменту гена *cyt b* мт-ДНК (Светлогорский район), представителей рода *Microtus*: 1 – ДНК-маркер; 2–5, 7, 8 – продукты амплификации целевого фрагмента (842 п. н.), 6 – продукты амплификации целевого фрагмента (469 п. н.)

Fig. 3. Electrophoregram of DNA fragments obtained by PCR typing on a fragment of the *cyt b* mt-DNA gene (Svetlogorsk region) representatives of the genus *Microtus*: 1 – DNA marker; 2–5, 7, 8 – target fragment amplification products (842 bp), 6 – target fragment amplification products (469 bp)

позволяет провести точную видовую идентификацию в случае невозможности приготовления хромосомных препаратов в ходе исследования либо при получении некачественных препаратов метафаз. При помощи данного метода нами проведены масштабные исследования на территории Беларуси, которые затронули 30 районов (2016–2019 гг.) [5, 12]. В результате молекулярно-генетических исследований установлено, что в совокупной выборке ($n = 106$) все отловленные особи рода *Microtus* относятся к виду *Microtus arvalis*, а одна особь, отловленная в Светлогорском районе, идентифицирована как *M. rossiaemeridionalis* (рис. 3).

Согласно результатам ПЦР-типирования, у представителей рода *Microtus* обнаружены амплифицированные фрагменты митохондриального гена *cyt b* размером 842 и 469 п. н., что характерно для обыкновенной и восточноевропейской полевки соответственно. Из электрофореграммы, представленной выше, у образца 205.1-20Б (6 целевой фрагмент амплификации) выявлен амплифицированный фрагмент митохондриального гена *cyt b* длиной 469 п. н., у остальных образцов (2–5, 7, 8) – длиной 842 п. н., что характерно для *M. arvalis* формы «*arvalis*». Таким образом, на территории Беларуси впервые с использованием данного молекулярно-генетического метода выявлено присутствие *Microtus rossiaemeridionalis*.

Заключение. Карิโอтип особи *M. rossiaemeridionalis* представлен 54 хромосомами ($2n = 54$), из которых все акроцентрики (а), кроме самой малой пары метацентриков (m) ($NF = 56$). У данной особи (205.1-20Б, Светлогорский район, окр. д. Якимова Слобода) обнаружено характерное количество аутосом для данного вида: 25 пар больших и малых акроцентриков (а), 1 пара маленьких метацентриков (m). Также у данного самца имеется одна акроцентрическая X-хромосома и одна акроцентрическая Y-хромосома.

При проведении ПЦР-типирования образца 205.1-20Б обнаружен амплифицированный фрагмент митохондриального гена *cyt b* длиной 469 п. н., у остальных особей ($n = 105$) – длиной 842 п. н., что характерно для *M. arvalis* формы «*arvalis*». Таким образом, с использованием данного молекулярно-генетического метода впервые на данной территории выявлено присутствие *Microtus rossiaemeridionalis*.

Учитывая данные о распространении восточноевропейской полевки в Беларуси [1, 3, 13], крайнюю западную границу можно провести через центральную часть Полесья, центральную часть Минской области и северно-восточную часть Витебской области. Ранее В. Ф. Терехович и Н. В. Манохиной на территории Беларуси было отмечено всего 9 мест обитания восточноевропейской полевки, причем в 2 из них виды-двойники обитали совместно. На сегодняшний день исследовано всего 35 административных районов республики, при этом, по результатам проведенных нами исследований, установлено только одно место совместного обитания криптических видов. В связи с этим вопросы совместного обитания восточноевропейской и обыкновенной полевки, а также обнаружения восточноевропейской полевки на территории Беларуси требуют дальнейшего расширения региона исследований. Учитывая предположительные границы распространения, в дальнейшем нами планируется проведение исследований в районах указанных границ распространения, а также на север и юг вдоль описанных границ.

Благодарности. Работа выполнена в рамках диссертационного исследования «Криптические виды обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s. l. в Беларуси: современный видовой статус и сравнительный анализ пространственно-биотопической структуры» (2019–2021 гг) при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований на 2020–2022 (проект Б20М-062 «Пространственно-биотопическая структура криптических видов обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s. l. в Центральной и Западной Беларуси»).

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории популяционной экологии наземных позвоночных и управления биоресурсами за помощь в отлове мелких млекопитающих в Воложинском, Хойникском, Мядельском, Стародорожском и Речицком районах.

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the dissertation research “Cryptic species of the common vole *Microtus arvalis* s. l. in Belarus: current species status and comparative analysis of the spatial-biotopic structure” (2019–2021) with the support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research for 2020–2022 (project B20M-062 «Spatial-biotopic structure of cryptic species of the common vole *Microtus arvalis* s. l. in Central and Western Belarus»).

The authors are grateful to the staff of the Laboratory of Population Ecology of Terrestrial Vertebrates and Biore-sources Management for their assistance in catching small mammals in the Volozhinsky, Khoyniksky, Myadelsky, Starodorozhsky and Rechitsky districts.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Манохина, Н. В. Хромосомный набор и таксономическое положение обыкновенной полевки Беларуси / Н. В. Манохина, В. Ф. Терехович // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. Химия. Биология. География. – 1979. – Т. 2, № 3. – С. 67–68.
2. Манохина, Н. В. Эколого-морфологическая характеристика обыкновенной полевки Беларуси / Н. В. Манохина. – Минск : Ин-т зоологии АН БССР, 1981. – 17 с.
3. Терехович, В. Ф. Таксономическое положение и распространение обыкновенной полевки на территории Беларуси / В. Ф. Терехович, Н. В. Манохина // Млекопитающие СССР : III съезд Всесоюз. териол. о-ва, Москва, 1–5 февр. 1982 г. : тез. докл. : в 2 т. / Акад. наук СССР, Всесоюз. териол. о-во, Ин-т эволюц. морфологии и экологии животных ; редкол. : П. А. Пантелеев (отв. ред.) [и др.]. – М., 1982. – Т. 1. – С. 82.
4. Оценка плотности популяций видов рода *Microtus* долинных экосистем Беларуси / Е. И. Машков [и др.] // Весн. Магілёўск. дзярж. ун-та імя А. А. Куляшова. Сер. В. Прыродазнаўчыя навукі: матэматыка, фізіка, біялогія. – 2019. – № 2. – С. 96–109.
5. Машков, Е. И. Начальные данные по хромосомному и молекулярно-генетическому анализу (ПЦР-типирование) обыкновенной полевки (*Microtus arvalis sensu lato*) в Беларуси / Е. И. Машков, Е. С. Гайдученко, И. А. Кришчук // Весн. Гродз. дзярж. ун-та імя Янкі Купалы. Сер. 5. Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 138–147.
6. Наумов, Н. П. Очерки сравнительной экологии мышевидных грызунов / Н. П. Наумов. – М.-Л. : Акад. наук СССР, 1948. – 204 с.
7. Михолап, О. Н. Изменение численности рыжей и обыкновенной полевков под влиянием мелиорации низинного болота / О. Н. Михолап, В. В. Михайловская // Итоги исследований по международной биологической программе в БССР : материалы Объед. сес. Отд-ния биол. наук АН БССР и Белорус. респ. комитета по МБП / Белорус. респ. комитет по Междунар. биол. программе. – Минск, 1974. – С. 18–20.
8. Тесленко, С. В. Виды-двойники надвида *Microtus arvalis* на Украине / С. В. Тесленко, И. В. Загороднюк // Весн. зоологии. – 1986. – № 6. – С. 27–31.
9. Ford, C. E. A colchicines hypotonic citrate squash / C. E. Ford, J. L. Hamerton // Stain Technol. – 1956. – Vol. 31, N 6. – P. 247–251. <https://doi.org/10.3109/10520295609113814>
10. К распространению изменчивости видов-двойников *Microtus arvalis* s. l. (Rodentia, Arvicolinae) в Центральном Черноземье по хромосомным и молекулярно-генетическим данным / М. И. Баскевич [и др.] // Зоол. журн. – 2009. – Т. 88, № 4. – С. 473–487.
11. Потапов, С. Г. Молекулярно-генетические исследования (RAPD-анализ) *Microtus arvalis sensu lato* (Rodentia, Arvicolidae) на Русской равнине / С. Г. Потапов, Н. М. Окулова, М. И. Баскевич // Молекулярно-генетические основы сохранения биоразнообразия млекопитающих Голарктики : материалы Междунар. конф. (Черноголовка, 26–30 нояб. 2007 г.). – М., 2007. – С. 213–220.
12. Машков, Е. И. Анализ кариотипа природных экосистемах обыкновенной полевки, обитающей в Беларуси / Е. И. Машков // Структура и динамика биоразнообразия : материалы I Респ. заоч. науч.-практ. конф. молодых ученых, Минск, 23 дек. 2019 г. / Белорус. гос. ун-т ; редкол. : С. В. Буга (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – С. 52–54.
13. Shenbrot, G. I. Atlas of the Geographic Distribution of the Arvicoline Rodents of the World (Rodentia, Muridae: Arvicolinae) / G. I. Shenbrot, B. R. Krasnov. – Sofia : Pensoft, 2005. – 336 p.

References

1. Manokhina N. V., Terekhovich V. F. Chromosomal set and taxonomic position of the common vole of Belarus. *Vestnik Belorusskogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian University. Series 2. Chemistry. Biology. Geography], 1979, vol. 2, no. 3, pp. 67–68 (in Russian).
2. Manokhina N. V. *Ecological and morphological characteristics of the common vole of Belarus*. Minsk, Institute of Zoology of the Academy of Sciences of the BSSR, 1981. 17 p. (in Russian).
3. Terekhovich V. F., Manokhina N. V. The taxonomic position and distribution of the common vole on the territory of Belarus. *Mammals of the USSR. Mlekovpitayushchie SSSR : tezisy dokladov III s'ezda Vsesoyuznogo teriologicheskogo obshchestva (Moskva, 1–5 fevralya 1982 goda). Tom 1* [Mammals of the USSR : abstracts of the III congress of the All-Union theriological society (Moscow, February 1–5, 1982). Volume 1]. Moscow, 1982, p. 82 (in Russian).
4. Mashkov E. I., Gaiduchenko E. S., Krishchuk I. A., Solovei I. A. Estimation of the population density of *Microtus* species of the valley ecosystems of Belarus. *Vesnik Magileuskaga dzyarzhavnaga universiteta imya A. A. Kulyashova. Seryya B. Pryrodaznachyaya navuki: matematyka, fizika, biyaliogiya* [Bulletin of Mogilev State University named after A. A. Kuleshov. Series B. Natural sciences: mathematics, physics, biology], 2019, pp. 96–109 (in Belarusian).
5. Mashkov E. I., Gaiduchenko E. S., Krishchuk I. A. Evaluation of the population density of species of the genus *Microtus* of the valley ecosystems of Belarus. *Vestnik Grodnenskogo gosudarstvennogo universiteta imeni Yanki Kupaly. Seriya 5. Ekonomika. Sotsiologiya. Biologiya* [Bulletin of the Yanka Kupala State University of Grodno. Series 5. Economy. Sociology. Biology], 2020, vol. 10, no. 2, pp. 138–147 (in Belarusian).
6. Naumov N. P. *Essays on the comparative ecology of mouse rodents*. Moscow, Leningrad, USSR Academy of Sciences Publ., 1948. 204 p. (in Russian).
7. Mikholap O. N., Mikhailovskaya V. V. Change in the number of red and common voles under the influence of land reclamation of the lowland swamp. *Itogi issledovaniy po mezhdunarodnoi biologicheskoi programme v BSSR : materialy Ob'edinennoy sessii Otdeleniya biologicheskikh nauk AN BSSR i Belorusskogo respublikanskogo komiteta po MBP* [Results

of research on the International biological program in the BSSR : materials of the Joint session of the Department of Biological Sciences of the Academy of Sciences of the BSSR and the Belarusian Republican Committee on IBP]. Minsk, 1974, pp. 18–20 (in Russian).

8. Teslenko S. V., Zagorodnyuk I. V. Twin species of the *Microtus arvalis* overspecies in Ukraine. *Vesnik zoologii* [Bulletin of zoology], 1986, no. 6, pp. 27–31 (in Russian).

9. Ford C. E., Hamerton J. L. A colchicines hypotonic citrate squash. *Stain Technology*, 1956, vol. 31, no. 6, pp. 247–251. <https://doi.org/10.3109/10520295609113814>

10. Baskevich M. I., Potapov S. G., Okulova N. M., Capel'nikov S. F., Vlasov A. A., Oparin M. L., Mironova T. A., Avilova E. A. On the spread of variability of twin species *Microtus arvalis* s. l. (Rodentia, Arvicolinae) in the Central Chernozem region according to chromosomal and molecular genetic data. *Zoologicheskii zhurnal* [Zoological journal], 2009, vol. 88, no. 4, pp. 473–487 (in Russian).

11. Potapov S. G., Okulova N. M., Baskevich M. I. Molecular genetic studies (RAPD analysis) of *Microtus arvalis sensu lato* (Rodentia, Arvicolidae) on the Russian Plain. *Molekulyarno-geneticheskie osnovy sokhraneniya bioraznobraziya mlekopitayushchikh Golarktiki : materialy Mezhdunarodnoi konferentsii (Chernogolovka, 26–30 noyabrya 2007 goda)* [Molecular genetic basis for the conservation of biodiversity of mammals in the Holarctic : materials of the International conference (Chernogolovka, November 26–30, 2007)]. Moscow, 2007, pp. 213–220 (in Russian).

12. Mashkov E. I. Analysis of the karyotype of the common vole inhabiting natural ecosystems of Belarus. *Struktura i dinamika bioraznobraziya : materialy I Respublikanskoi zaochnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh (Minsk, 23 dekabrya 2019 goda)* [The structure and dynamics of biodiversity : materials of the I Republican correspondence scientific and practical conference of young scientists (Minsk, December 23, 2019)]. Minsk, 2019, pp. 52–54 (in Russian).

13. Shenbrot G. I., Krasnov B. R. *Atlas of the Geographic Distribution of the Arvicoline Rodents of the World (Rodentia, Muridae: Arvicolinae)*. Sofia, Pensoft Publ., 2005. 336 p.

Информация об авторах

Машков Евгений Игоревич – аспирант, мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mashkov.evgenii25@gmail.com

Гайдученко Елена Сергеевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gajduchenko@tut.by

Information about the authors

Yauheni I. Mashkou – Postgraduate student, 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: mashkov.evgenii25@gmail.com

Helen S. Gajduchenko – 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: gajduchenko@tut.by

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 582.664:581.48
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-482-490>

Поступила в редакцию 14.06.2021
Received 14.06.2021

Т. Г. Шлапакова, В. В. Титок

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕМЯН РОДА *TURBINICARPUS*

Аннотация. Проведена сравнительная оценка морфологических и морфометрических характеристик семян 43 видов рода *Turbinicarpus* (сем. *Cactaceae*). Исследуемые таксоны были разделены на несколько групп в зависимости от скульптуры семенной кожуры и типа поверхности эпидермальных клеток семенной кожуры (гладкой или морщинистой). Установлены признаки, которые могут быть использованы в качестве диагностических для уточнения систематического положения растений.

Ключевые слова: *Turbinicarpus*, *Cactaceae*, семена, морфометрические характеристики семян, систематика, морфология, семенная кожура

Для цитирования: Шлапакова, Т. Г. Морфологические особенности семян рода *Turbinicarpus* / Т. Г. Шлапакова, В. В. Титок // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 482–490. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-482-490>

Tatsiana G. Shlapakova, Vladimir V. Titok

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

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEEDS OF THE GENUS *TURBINICARPUS*

Abstract. In the course of the research, the morphological and morphometric characteristics of the seeds of the leaders of the genus *Turbinicarpus* (family *Cactaceae*) were studied. The studied taxa were divided into several groups depending on the sculpture of the seed coat and the surface of the epidermal cells of the seed coat: the smooth surface of the epidermal cells and the wrinkled surface of the epidermal cells. Identified signs that can be used as diagnostic for establishing the systematic position of plants.

Keywords: *Turbinicarpus*, *Cactaceae*, seeds, morphometric characteristics of seeds, taxonomy, morphology, seed coat

For citation: Shlapakova T. G., Titok V. V. Morphological characteristics of seeds of the genus *Turbinicarpus*. *Vestsi Natsyonal'най akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 482–490 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-482-490>

Введение. Представители рода *Turbinicarpus* (Backeb.) Vuxb. et Backeb. в местах своего естественного произрастания находятся под угрозой исчезновения (включены в Приложение 1 СИТЕС), причиной чего является незаконное извлечение данных кактусов из природы, а также влияние изменения почвенного покрова (в частности, из-за чрезмерного выпаса скота). Неблагоприятные последствия нарушения популяции кактусов являются необратимыми, так как считается, что большинство растений имеют ограниченные возможности для восстановления.

Turbinicarpus – это род маленьких и средних кактусов, которые встречаются в Сонорской и Нагорно-Мексиканской провинциях Голарктического царства (северо-восточные регионы Мексики, в частности штаты Сан-Луис-Потоси, Гуанахуато, Нуэво-Леон, Керетаро, Идальго, Коауила, Тамаулипас и Сакатекас) [1, 2].

Морфоструктура семян как единицы растения, имеющей стабильные характеристики, может являться одним из важных для систематики признаков. Так, морфологические признаки семян рода *Turbinicarpus* могут оказаться видоспецифичными, что позволит использовать их для определения семян сомнительного происхождения из внешних источников. В систематике морфологические признаки семян, такие как текстура поверхности, окраска и скульптура семенной кожуры, форма придатка семени, используют как дополнительные диагностические критерии [3].

Важно учитывать не только особенности строения семян, но и влияние хранения на их последующую всхожесть [4].

Для более подробного и глубокого изучения структуры поверхности семени используют исследование методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Данный метод позволяет значительно облегчить систематизацию и классификацию семян [5]. Специфичность поверхности семени при таком детальном ее изучении, размеры и формы семян позволяют различать даже близкородственные растения. В ходе исследований с использованием метода СЭМ удалось распознать 9 отличительных особенностей и 3 типа микрорельефа у представителей рода *Stenocereus* (*Cactaceae*) [6]. Приведенные выше характеристики семян позволят определять виды или группы видов по уникальному сочетанию этих особенностей.

Цель работы – оценка морфологических и морфометрических характеристик семян рода *Turbincarpus* для уточнения систематического положения растений.

Объекты и методы исследования. Растительный материал представлен семенами 43 видов рода *Turbincarpus* (Backbg.) Buxb. & Backbg семейства *Cactaceae* Juss. коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси: *T. schmiedickeanus* subsp. *klinkerianus* (Backeb. & W. Jacobsen) Glass & R. A. Foster, *T. schmiedickeanus* subsp. *klinkerianus* “*lilinkeuiduus*”, *T. lophophoroides* (Werderm.) Buxb. & Backeb., *T. lophophoroides* f. *roseiflorus*, *T. pseudomacroechele* subsp. *lausseri* (Diers & G. Frank) Glass, *T. schmiedickeanus* subsp. *andersonii* Mosco, *T. schmiedickeanus* subsp. *flaviflorus* (G. Frank & A. B. Lau) Glass & R. A. Foster, *T. graminispinus* Matusz., *T. hoferi* Lüthy & A. B. Lau, *T. jauernigii* G. Frank, *T. pseudopectinatus* (Backeb.) Glass & R. A. Foster, *T. pseudopectinatus* v. *albiflorus*, *T. pseudopectinatus* v. *rubriflorus*, *T. valdezius* (Møller) Glass & R. A. Foster, *T. valdezius* v. *albiflorus*, *T. zaragozae* (Glass & R. A. Foster) Glass & Hofer, *T. schmiedickeanus* subsp. *bonatzii* (G. Frank) Panar., *T. schwarzii* (Shurly) Backeb., *T. schwarzii* var. *rubriflorus* Gerhart Frank, *T. spacelatus*, *T. × mombergeri* Riha, *T. gielsdorffianus* (Werderm.) John & Riha, *T. schmiedickeanus* subsp. *gracilis* (Glass & R. A. Foster) Glass., *T. saueri* subsp. *knuthianus* (Boed.) Lüthy, *T. saueri* ssp. *nelissae*, *T. pseudomacroechele* subsp. *minimus* (G. Frank) Lüthy & A. Hofer, *T. pseudomacroechele* subsp. *lausseri* (Diers & G. Frank) Glass, *T. schmiedickeanus* subsp. *macrochele* (Werderm.) N. P. Taylor, *T. macrochele* v. *kupackii*, *T. macrochele* v. *frailensis*, *T. polaskii* Backeb., *T. pseudomacroechele* (Backeb.) Buxb. & Backeb., *T. pseudomacroechele* v. *alenaе*, *T. schmiedickeanus* subsp. *dickisoniae* (Glass & R. A. Foster) N. P. Taylor, *T. swobodaе* Diers & Esteves, *T. saueri* subsp. *ysabelae* (Schlange) Lüthy., *T. saueri* (Boed.) John & Riha, *T. saueri* ssp. *gonzalezii*, *T. beguinii* v. *senilis* f. *nobile*, *T. mandragora* (Frič ex A. Berger) A. D. Zimmerman, *T. alonsoi* Glass & S. Arias, *T. laui* Glass & R. A. Foster, *T. roseiflorus* Backeb.

Описание семян исследуемых таксонов осуществляли с помощью атласов по морфологии высших растений [7]. При характеристике семян рассматривались следующие качественные и количественные признаки: форма и размеры (длина и ширина) семени, окраска, текстура и скульптура поверхности семенной кожуры, масса 100 свежих семян. Исследования методом СЭМ проводили на приборе JSM-5610 LV (Япония), световую микроскопию – на стереомикроскопе Olympus SZX16 (Япония) с камерой Olympus DP73 (Япония), массу семян – на весах Adventurer, измерение параметров – с помощью программы ImageJ (Wayne Rasband, 2007) (рис. 1) [8].

Для оценки сходства морфологии семян использовали следующие 6 признаков: форма семени,

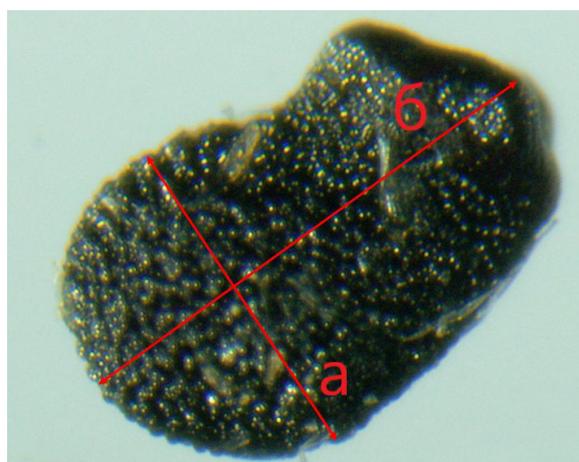


Рис. 1. Обозначенные параметры измерений семян рода *Turbincarpus*: а – длина, б – ширина

Fig. 1. The indicated parameters of measurements of seeds of the genus *Turbincarpus*: а – length, б – width

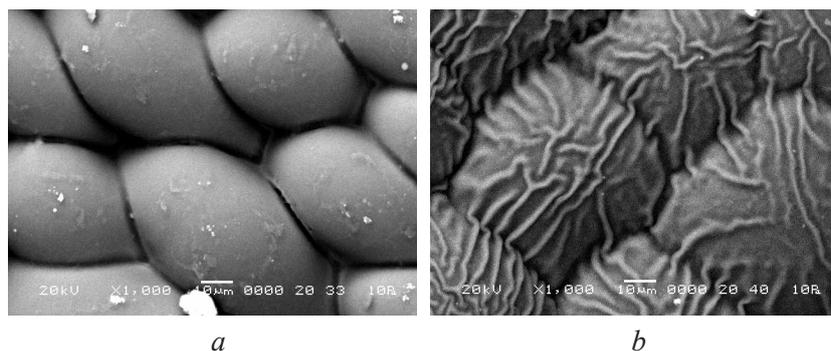


Рис. 2. Типы поверхности эпидермальных клеток семенной кожуры: *a* – гладкая поверхность эпидермальных клеток семян *T. pseudomacroechele* v. *alenae*; *b* – морщинистая поверхность эпидермальных клеток *T. laui*

Fig. 2. Types of the surface of the epidermal cells of the testa: *a* – the smooth surface of the epidermal cells of the seeds of *T. pseudomacroechele* v. *alenae*; *b* – wrinkled surface of *T. laui* epidermal cells

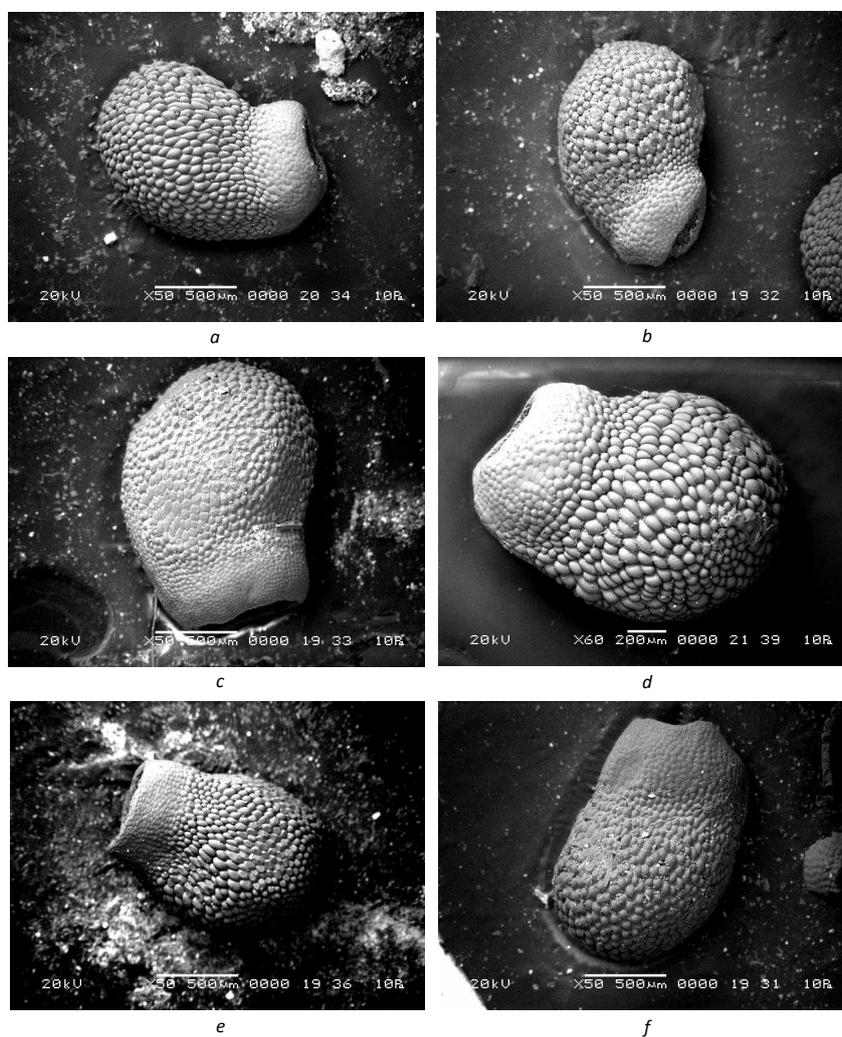


Рис. 3. Семена *Turbinicarpus* с гладкой поверхностью эпидермальных клеток семян: *a* – *T. spacellatus*, *b* – *T. pseudomacroechele* subsp. *krainzianus* v. *lausseri*, *c* – *T. pseudomacroechele*, *d* – *T. pseudomacroechele* subsp. *lausseri*, *e* – *T. pseudomacroechele* v. *alenae*, *f* – *T. pseudomacroechele* subsp. *minimus*

Fig. 3. Seeds of *Turbinicarpus* with a smooth surface of seed epidermal cells: *a* – *T. spacellatus*, *b* – *T. pseudomacroechele* subsp. *krainzianus* v. *lausseri*, *c* – *T. pseudomacroechele*, *d* – *T. pseudomacroechele* subsp. *lausseri*, *e* – *T. pseudomacroechele* v. *alenae*, *f* – *T. pseudomacroechele* subsp. *minimus*

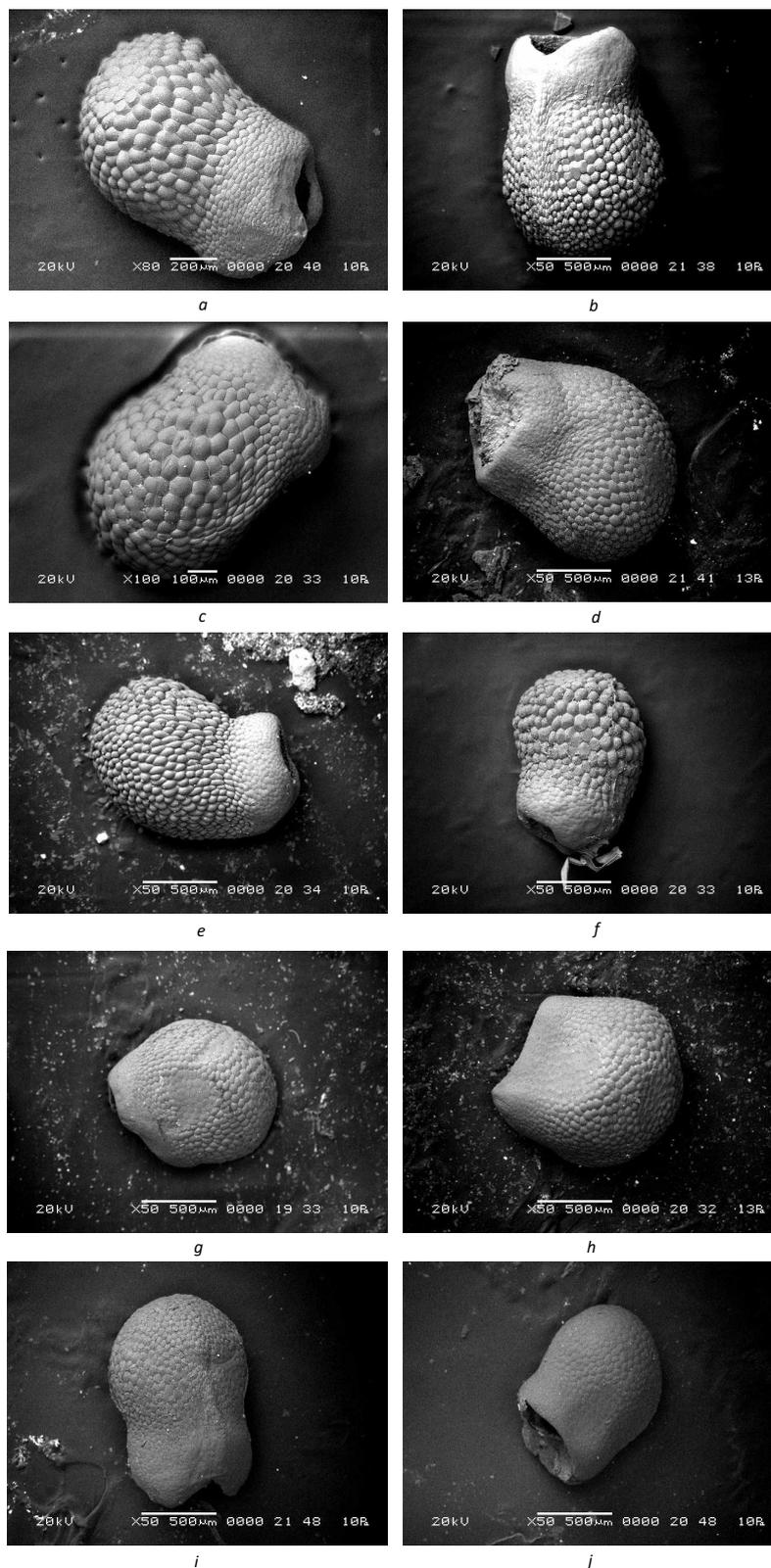


Рис. 4. Семена *Turbinicarpus* с морщинистой поверхностью эпидермальных клеток семян: *a* – *T. alonsoi*, *b* – *T. saueri* ssp. *gonzalezii*, *c* – *T. hoferi*, *d* – *T. pseudopectinatus*, *e* – *T. spacellatus*, *f* – *T. jauernigii*, *g* – *T. schwarzii* var. *rubriflorus*, *h* – *T. macrochele* v. *kupackii*, *i* – *T. polaskii*, *j* – *T. schwarzii*

Fig. 4. Seeds of *Turbinicarpus* with a wrinkled surface of seed epidermal cells: *a* – *T. alonsoi*, *b* – *T. saueri* ssp. *gonzalezii*, *c* – *T. hoferi*, *d* – *T. pseudopectinatus*, *e* – *T. spacellatus*, *f* – *T. jauernigii*, *g* – *T. schwarzii* var. *rubriflorus*, *h* – *T. macrochele* v. *kupackii*, *i* – *T. polaskii*, *j* – *T. schwarzii*

длина, ширина, цвет, тип поверхности, масса. Построение матрицы чисел и дендрограмм выполняли с помощью свободной программной среды вычислений с открытым исходным кодом R (Окленд, 1993) методом минимума дисперсии Уорда (Ward). В качестве расстояний между объектами при формировании кластеров использовали евклидово расстояние. Все анализы выполняли в трехкратной повторности. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 2007. Значения статистически значимо различались при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Сравнительный морфологический анализ семян с использованием СЭМ позволил разделить исследуемые таксоны на несколько групп в зависимости от скульптуры семенной кожуры и поверхности эпидермальных клеток семенной кожуры (ГПЭЖ – гладкая поверхность эпидермальных клеток, МПЭЖ – морщинистая поверхность эпидермальных клеток) (рис. 2–4). На рис. 2 представлены типы поверхности эпидермальных клеток семенной кожуры семян двух видов рода *Turbinicarpus*.

Данные СЭМ позволили описать морфологические характеристики семян исследуемого рода и выявить закономерности, которые можно использовать как систематические признаки (табл. 1, 2).

Т а б л и ц а 1. Морфометрические характеристики семян видов *Turbinicarpus* с гладкой поверхностью эпидермальных клеток

Table 1. Morphometric characteristics of seeds of *Turbinicarpus* with a smooth surface of epidermal cells

Вид	Форма	Длина, мм	Ширина, мм	Цвет семенной кожуры	Тип поверхности	Масса свежих 100 семян, мг
<i>T. pseudomacrochele</i>	Шаровидно-усеченная, загнутая	1,44 ± 0,08	1,13 ± 0,11	Блестяще-черный	Пупырчатая	79,0
<i>T. pseudomacrochele</i> v. <i>alenae</i>	Шаровидно-усеченная, загнутая	1,46 ± 0,13	1,14 ± 0,09		Пупырчатая	77,3
<i>T. pseudomacrochele</i> subsp. <i>lausseri</i>	Продолговато-овальная, загнутая	1,54 ± 0,12	1,17 ± 0,09		Бугорчатая	78,0
<i>T. pseudomacrochele</i> subsp. <i>minimus</i>	Продолговато-овальная, втянутая	1,52 ± 0,11	1,07 ± 0,06		Пупырчатая	76,0
<i>T. spacellatus</i>	Продолговато-овальная, загнутая	1,45 ± 0,06	0,95 ± 0,07		Пупырчатая	53,1
<i>T. pseudomacrochele</i> subsp. <i>krainzianus</i> v. <i>lausseri</i>	Продолговато-овальная, втянутая	1,45 ± 0,07	1,12 ± 0,07		Пупырчатая	86,9
НСР _{0,05}	–	0,08	0,03	–	–	0,01

Т а б л и ц а 2. Морфометрические характеристики семян видов *Turbinicarpus* с морщинистой поверхностью эпидермальных клеток

Table 2. Morphometric characteristics of seeds of *Turbinicarpus* with a wrinkled surface of epidermal cells

Вид	Форма	Длина, мм	Ширина, мм	Цвет семенной кожуры	Тип поверхности	Масса свежих 100 семян, мг
<i>T. alonsoi</i>	Продолговато-овальная, кувшинообразная	1,11 ± 0,14	0,68 ± 0,06	Блестяще-черный	Бородавчатая	26,8
<i>T. beguinii</i> v. <i>senilis</i> f. <i>Nobile</i>	Шаровидно-усеченная	1,32 ± 0,07	1,38 ± 0,15	Матово-черный	Бородавчатая	128,0
<i>T. gielsdorffianus</i>	Продолговато-овальная, втянутая	1,36 ± 0,09	0,86 ± 0,07	Матово-черный	Бородавчатая	43,1
<i>T. graminispinus</i>	Шаровидно-усеченная	1,14 ± 0,05	0,99 ± 0,04	Блестяще-черный	Пупырчатая	58,0
<i>T. hoferi</i>	Шаровидно-усеченная	0,93 ± 0,08	0,76 ± 0,04	Блестящий темно-рыжий	Пупырчатая	29,1

Продолжение табл. 2

Вид	Форма	Длина, мм	Ширина, мм	Цвет семенной кожуры	Тип поверхности	Масса свежих 100 семян, мг
<i>T. jauernigii</i>	Продолговато- овальная	1,35 ± 0,12	0,95 ± 0,03	Матово-черный	Пупырчатая	55,0
<i>T. laui</i>	Продолговато- овальная	1,44 ± 0,13	1,15 ± 0,09	Блестяще- черный	Бугорчатая	91,5
<i>T. lophophoroides</i>	Шаровидно- усеченная	1,41 ± 0,05	1,12 ± 0,06	Блестяще- черный	Пупырчатая	72,5
<i>T. lophophoroides f. roseiflorus</i>	Продолговато- овальная, усеченная	1,10 ± 0,12	0,92 ± 0,06	Блестяще- черный	Слабобугорчатая	43,0
<i>T. mandragora</i>	Шаровидно- усеченная	1,39 ± 0,12	1,25 ± 0,11	Матово-черный	Пупырчатая	103,0
<i>T. × tombergeri</i>	Шаровидно- усеченная	1,38 ± 0,13	1,24 ± 0,08	Матово-черный	Бугорчатая	73,1
<i>T. polaskii</i>	Шаровидно- усеченная	1,09 ± 0,09	1,06 ± 0,06	Матово-черный	Бугорчатая	49,2
<i>T. pseudopectinatus</i>	Шаровидная	1,48 ± 0,13	1,38 ± 0,07	Матово-черный	Пупырчатая	92,0
<i>T. pseudopectinatus v. albiflorus</i>	Шаровидно- усеченная	0,98 ± 0,06	0,82 ± 0,11	Матово-черный	Бугорчатая	25,5
<i>T. pseudopectinatus v. rubriflorus</i>	Шаровидно- вытянутая	1,39 ± 0,13	1,21 ± 0,15	Матово-черный	Пупырчатая	94,0
<i>T. roseiflorus</i>	Шаровидно- вытянутая, усеченная	1,14 ± 0,07	0,96 ± 0,06	Матово-черный	Бугорчатая	42,0
<i>T. saueri</i>	Продолговато- овальная, втянутая	1,23 ± 0,07	0,88 ± 0,05	Блестяще- черный	Бугорчатая	38,5
<i>T. saueri ssp. gonzalezii</i>	Продолговато- овальная	1,56 ± 0,9	1,23 ± 0,08	Матово-черный	Пупырчатая	112,0
<i>T. saueri subsp. knuthianus</i>	Шаровидно- усеченная	1,29 ± 0,12	1,21 ± 0,14	Блестяще- черный	Бородавчатая	95,0
<i>T. saueri ssp. nelissae</i>	Продолговато- овальная, загнутая	1,30 ± 0,13	1,06 ± 0,12	Блестяще- черный	Бугорчатая	68,0
<i>T. saueri subsp. ysabelae</i>	Продолговато- овальная	1,35 ± 0,08	1,08 ± 0,08	Матово-черный	Пупырчатая	76,9
<i>T. schmedickeanus subsp. andersonii</i>	Продолговато- овальная	1,25 ± 0,11	1,08 ± 0,08	Матово-черный	Бугорчатая	66,0
<i>T. schmedickeanus subsp. bonatzii</i>	Шаровидно- усеченная	1,21 ± 0,07	0,98 ± 0,05	Матово-черный	Бородавчатая	62,0
<i>T. schmedickeanus subsp. dickisoniae</i>	Шаровидно- усеченная, загнутая	1,08 ± 0,09	0,86 ± 0,06	Матово-черный	Бугорчатая	35,4
<i>T. schmedickeanus subsp. flaviflorus</i>	Продолговато- овальная, втянутая	1,14 ± 0,11	0,79 ± 0,08	Матово-черный	Бородавчатая	44,5
<i>T. schmedickeanus subsp. gracilis</i>	Продолговато- овальная, усеченная	1,19 ± 0,03	0,95 ± 0,06	Матово-черный	Бугорчатая	36,9
<i>T. schmedickeanus subsp. klinkerianus</i>	Продолговато- овальная, кувшинообразная	1,08 ± 0,09	0,92 ± 0,10	Матово-черный	Бугорчатая	55,3
<i>T. schmedickeanus subsp. klinkerianus "lilinkeuidus"</i>	Шаровидно- усеченная	1,03 ± 0,06	0,90 ± 0,04	Матово-черный	Пупырчатая	37,7
<i>T. schmedickeanus subsp. macrochele</i>	Шаровидно- усеченная, загнутая	1,24 ± 0,09	1,15 ± 0,07	Матово-черный	Бугорчатая	59,2
<i>T. schmedickeanus subsp. macrochele v. frailensis</i>	Шаровидно- усеченная	1,39 ± 0,10	1,11 ± 0,07	Блестяще- черный	Бугорчатая	86,2
<i>T. schmedickeanus subsp. macrochele v. kupackii</i>	Продолговато- овальная	1,28 ± 0,11	1,08 ± 0,11	Матово-черный	Бугорчатая	69,4

Окончание табл. 2

Вид	Форма	Длина, мм	Ширина, мм	Цвет семенной кожуры	Тип поверхности	Масса свежих 100 семян, мг
<i>T. schwarzii</i>	Шаровидно-усеченная	1,04 ± 0,07	0,98 ± 0,07	Матово-черный	Слабобугорчатая	40,0
<i>T. schwarzii</i> var. <i>rubriflorus</i>	Шаровидно-усеченная	1,10 ± 0,09	1,03 ± 0,09	Матово-черный	Слабобугорчатая	44,2
<i>T. swobodae</i>	Продолговато-овальная	1,35 ± 0,12	0,98 ± 0,06	Матово-черный	Бугорчатая	47,5
<i>T. valdezianus</i>	Шаровидно-усеченная	1,36 ± 0,11	1,16 ± 0,08	Матово-черный	Пупырчатая	75,5
<i>T. valdezianus</i> v. <i>albiflorus</i>	Шаровидно-усеченная, удлиненная	1,31 ± 0,11	1,09 ± 0,13	Матово-черный	Пупырчатая	72,0
<i>T. zaragozae</i>	Шаровидно-усеченная, загнутая	1,35 ± 0,15	1,27 ± 0,13	Матово-черный	Пупырчатая	107,0
НСР _{0,05}	–	0,03	0,03	–	–	1,06

Проведенное исследование показало, что наиболее варибельными морфологическими признаками семян изученных видов семян рода *Turbinicarpus* являются: поверхность семенной кожуры и эпидермальных клеток семенной кожуры (рис. 5).

Основной объем группы ГПЭК составляют подвиды и сорта вида *T. pseudomacrolele*, за исключением *T. spacellatus*, который имеет наименьшую массу 100 свежих семян в данной группе – 53,1 мг. Наибольшая же масса у семян *T. pseudomacrolele* subsp. *krainzianus* v. *lausseri* – 86,9 мг. Различаются и размеры семян в данной группе: максимальная длина семени – у *T. pseudomacrolele* subsp. *lausseri* (1,53 ± 0,12 мм), минимальная – у *T. pseudomacrolele* (1,44 ± 0,08 мм); максимальная ширина – у *T. pseudomacrolele* subsp. *lausseri* (1,17 ± 0,09 мм), минимальная – у *T. spacellatus* (0,95 ± 0,07 мм). Таким образом, *T. pseudomacrolele* subsp. *lausseri* имеет самые крупные семена в группе ГПЭК. Все растения этой группы имеют пупырчатую поверхность, кроме *T. pseudomacrolele* subsp. *lausseri*, поверхность которого бугорчатая.

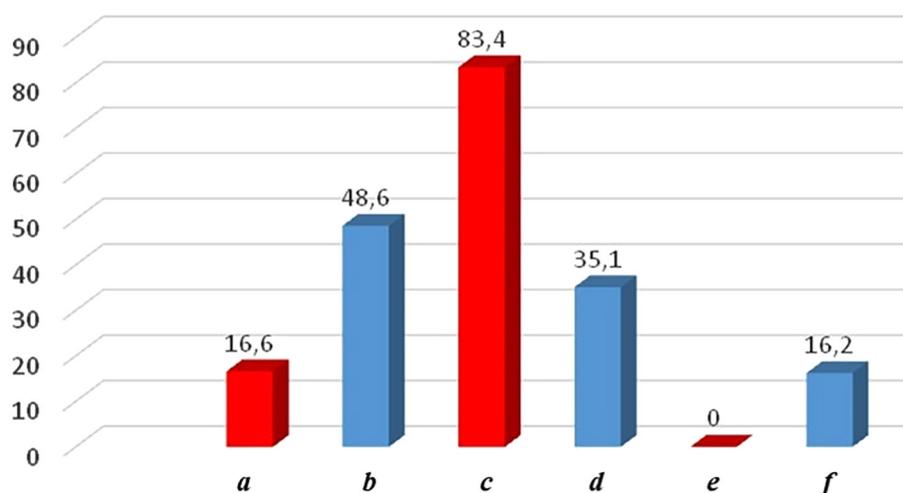


Рис. 5. Частота встречаемости морфологических признаков семян исследуемого рода: по горизонтали – виды и морфологические признаки семян, по вертикали – частота встречаемости признака, %.

Поверхность эпидермальных клеток семян: a, c, e – гладкая; b, d, f – морщинистая;
a, b – бугорчатая; c, d – пупырчатая; e, f – бородавчатая

Fig. 5. Frequency of occurrence of morphological traits of seeds of the studied genus: horizontally – species and morphological traits of seeds, vertically – frequency of occurrence of a trait, %.
Surface of epidermal cells: a, c, e – smooth; b, d, f – wrinkled; a, b – tuberous; c, d – pimply; e, f – warty

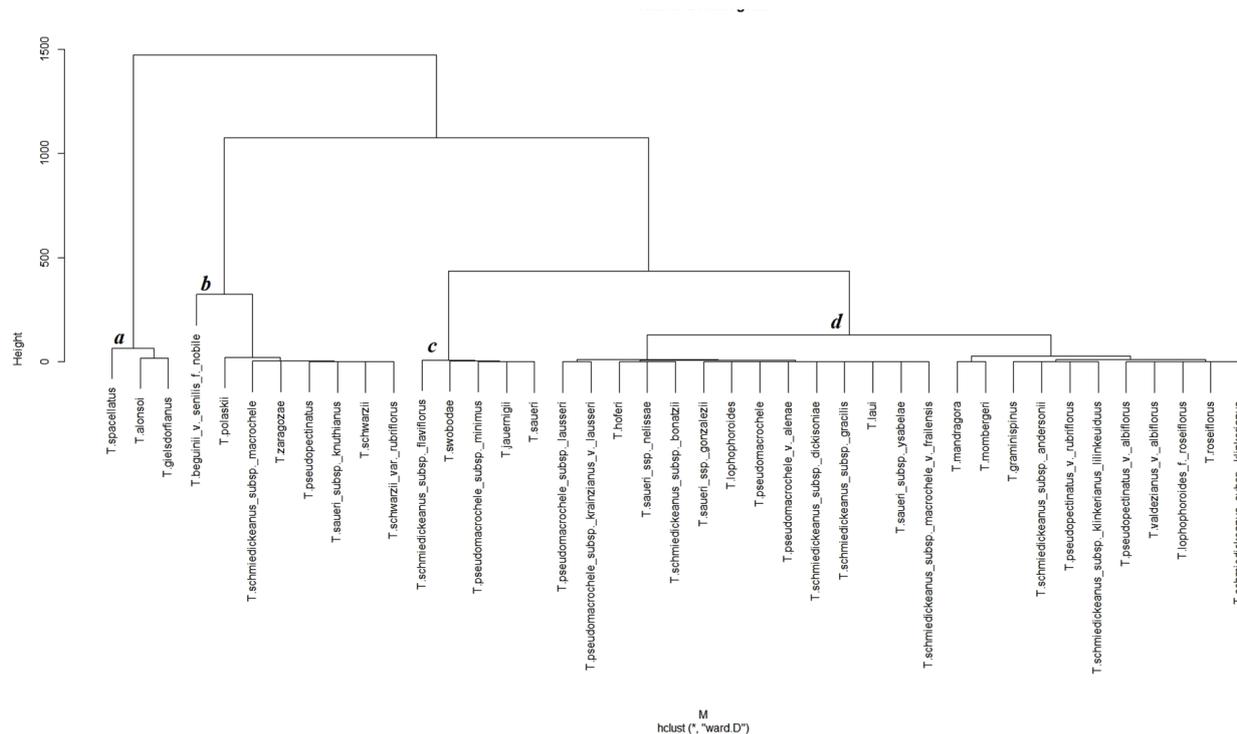


Рис. 6. Дендрограмма, показывающая кластеризацию видов *Turbinicarpus* на основе 6 признаков.

Буквами *a*, *b*, *c*, *d* обозначены основные группы

Fig. 6. Dendrogram showing clustering species of *Turbinicarpus* based on 6 traits.

The letters *a*, *b*, *c*, *d* designate the main groups

Среди исследуемых растений группы МПЭК наименьшую массу 100 свежих семян имеет *T. alonsoi* (26,8 мг), наибольшую – *T. beguinii v. senilis f. nobile* (128,0 мг). Максимальная длина семени зафиксирована у *T. saueri ssp. gonzalezii* ($1,56 \pm 0,09$ мм), минимальная – у *T. hoferi* ($0,93 \pm 0,08$ мм). Максимальную ширину семени имеет *T. pseudopectinatus* ($1,38 \pm 0,07$ мм), минимальную – *T. alonsoi* ($0,68 \pm 0,06$ мм). *T. alonsoi* можно считать растением с самыми мелкими семенами не только в группе МПЭК, но и среди всех изученных растений.

Форма семени у растений группы ГПЭК продолговато-овальная либо шаровидно-усеченная. Семенная кожура блестящая, черного цвета. В группе МПЭК встречаются различные вариации шаровидной и овальной форм (продолговатые, усеченные, кувшинообразные, вытянутые, загнутые и удлиненные). Преобладают виды с бугорчатой поверхностью семенной кожуры (48,6 % от общего количества в группе МПЭК), пупырчатая поверхность семенной кожуры встречается чуть реже (35,1 %), а наиболее редкая – бородавчатая поверхность (16,2 %).

Дендрограмма разделена на 4 основных кластера (рис. 6). Первый кластер (*a*) включает 3 вида; второй (*b*) – 9, разделенных на две подгруппы; третий (*c*) – 6; самый многочисленный четвертый (*d*) – 27 видов, также разделенных на две подгруппы по 14 и 13 видов. Последующие генетические исследования позволят более точно определить филогенетические связи внутри рода [9, 10].

Для семян исследуемых растений характерен черный цвет семенной кожуры, за исключением *T. hoferi*, семена которого имеют темно-рыжий цвет. Исходя из анализа полученных размеров семян *Turbinicarpus*, можно сделать вывод о том, что размеры (в данном случае ширина, длина и масса) существенно отличаются, поэтому данный показатель является систематическим признаком.

Заключение. Изученные морфометрические признаки семян рода *Turbinicarpus* могут быть использованы в качестве диагностических для установления систематического положения растений, полученных из спорных источников. Для определения таксонов по семенам необходимо использовать весь комплекс морфометрических признаков.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Тахтаджян, А. Л. Флористические области Земли / А. Л. Тахтаджян. – Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1978. – 247 с.
2. Шлапакова, Т. Г. Род *Turbincarpus* (Backeb.) Buxb. et Backeb.) в коллекции Центрального ботанического сада / Т. Г. Шлапакова // Ботанические чтения : материалы междунар. науч. конф. (Беларусь, Брест, 25 февр. 2021 г.) / ред. : В. И. Бойко, Н. В. Шкуратова, М. В. Левковская. – Брест, 2021. – С. 107–110.
3. Чичканова, Е. С. Применение морфологических признаков семян и плодов в систематике рода *Rebutia* (Cactaceae) / Е. С. Чичканова // Систем. заметки по материалам Гербария им. П. Н. Крылова Том. гос. ун-та. – 2015. – № 112. – С. 46–59.
4. Гайдаржи, М. Н. Суккулентные растения (анатомо-морфологические особенности, распространение и использование) : учеб. пособие / М. Н. Гайдаржи, В. В. Никитина, К. Н. Баглай. – Киев : Киев. ун-т, 2011. – 176 с.
5. Grilli Caiola, M. Seed structure in *Crocus sativus* L. × *C. cartwrightianus* Herb., *C. thomasi* Ten., and *C. hadriaticus* Herb. at SEM / M. Grilli Caiola, D. Leonardi, A. Canini // Plant Syst. Evol. – 2010. – Vol. 285, N 1–2. – P. 111–120. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0261-x>
6. The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae) / G. Arroyo-Cosultchi [et al.] // Taxon. – 2006. – Vol. 55, N 4. – P. 983–992. <https://doi.org/10.2307/25065693>
7. Артюшенко, З. Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя / З. Т. Артюшенко. – Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1990. – 202 с.
8. Arias, S. Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae) / S. Arias, T. Terrazas // J. Plant Res. – 2004. – Vol. 117, N 4. – P. 277–289. <https://doi.org/10.1007/s10265-004-0156-4>
9. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae) / M. Vázquez-Sánchez [et al.] // System. Biodivers. – 2013. – Vol. 11, N 1. – P. 103–116. <https://doi.org/10.1080/14772000.2013.775191>
10. Polyphyly of the iconic cactus genus *Turbincarpus* (Cactaceae) and its generic circumscription / M. Vázquez-Sánchez [et al.] // Bot. J. Lin. Soc. – 2019. – Vol. 190, N 4. – P. 405–420. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz027>

References

1. Takhtadzhyan A. L. *The floristic regions of the world*. Leningrad, Nauka. Lenigradskoe otdelenie Publ., 1978. 247 p. (in Russian).
2. Shlapakova T. G. Genus *Turbincarpus* (Backeb.) Buxb. et Backeb.) in the collection of the Central Botanical Garden. *Botanicheskie chteniya: sbornik materialov Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Brest, 25 fevralya 2021 goda)* [Botanical readings: collection of materials of the International scientific conference (Brest, February 25, 2021)]. Brest, 2021, pp. 107–110 (in Russian).
3. Chichkanova E. S. Application of morphological traits of seeds and fruits in the taxonomy of the genus *Rebutia* (Cactaceae). *Sistemicheskie zametki po materialam Gerbariya im. P. N. Krylova Tomskogo gosudarstvennogo universiteta* [Systematic notes on the materials of the Herbarium P. N. Krylov, Tomsk State University], 2015, no. 112, pp. 46–59 (in Russian).
4. Gaidarzhi M. N., Nikitina V. V., Baglai K. N. *Succulent plants (anatomical and morphological features, distribution and use) : a tutorial*. Kiev, Kiev University Publ., 2011. 176 p. (in Russian).
5. Grilli Caiola M., Leonardi D., Canini A. Seed structure in *Crocus sativus* L. × *C. cartwrightianus* Herb., *C. thomasi* Ten., and *C. hadriaticus* Herb. at SEM. *Plant Systematics and Evolution*, 2010, vol. 285, no. 1–2, pp. 111–120. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0261-x>
6. Arroyo-Cosultchi G., Terrazas T., Arias S., Arreola-Nava H. J. The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae). *Taxon*, 2006, vol. 55, no. 4, pp. 983–992. <https://doi.org/10.2307/25065693>
7. Artyushenko Z. T., Fedorov A. A., Kirpichnikov M. E. *Atlas of descriptive morphology of higher plants. Seed*. Leningrad, Nauka. Lenigradskoe otdelenie Publ., 1990. 202 p. (in Russian).
8. Arias S., Terrazas T. Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae). *Journal of Plant Research*, 2004, vol. 117, no. 4, pp. 277–289. <https://doi.org/10.1007/s10265-004-0156-4>
9. Vázquez-Sánchez M., Terrazas T., Arias S., Ochoterena H. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteeae (Cactaceae). *Systematics and Biodiversity*, 2013, vol. 11, no. 1, pp. 103–116. <https://doi.org/10.1080/14772000.2013.775191>
10. Vázquez-Sánchez M., Sánchez D., Terrazas T., De la Rosa-Tilapa A. Polyphyly of the iconic cactus genus *Turbincarpus* (Cactaceae) and its generic circumscription. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2019, vol. 190, no. 4, pp. 405–420. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz027>

Информация об авторах

Шлапакова Татьяна Геннадьевна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: T.Shlapakova@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

Tatsiana G. Shlapakova – Junior Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: T.Shlapakova@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., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Titok@cbg.org.by

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 58.006:581.056:502.75

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-491-496>

Поступила в редакцию 05.08.2021

Received 05.08.2021

Г. А. Солтани

Сочинский национальный парк, Сочи, Российская Федерация

КЛИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ И ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ БОТАНИЧЕСКИХ САДОВ

Аннотация. В статье обсуждаются проблемы и перспективы развития ботанических садов в условиях изменяющегося климата. Повышение среднегодовой температуры приземного воздуха, изменение сезонных показателей и продолжительности вегетационного периода требуют принятия учитывающих экологическую ситуацию решений по управлению природными и рукотворными экосистемами с целью их сохранения и устойчивого развития. Накопленные знания и опыт сотрудников ботанических садов позволяют оценить угрозы и возможности при климатических изменениях и разработать меры адаптации к ним. Вся деятельность ботанических садов должна быть направлена на противодействие климатическим изменениям, включать предупредительные меры, основанные на ожидаемых реакциях растений, и компенсационные мероприятия. Научно-исследовательские работы по всем направлениям должны учитывать ситуацию с изменением климатических параметров. Особое внимание необходимо уделить эндемичным редким и исчезающим видам, историческим ландшафтам, изменению ассортимента устойчивых видов, технологиям культивирования, биологическим инвазиям. Ботанические сады должны работать на опережение, предоставляя информацию, растительные материалы и технологии для общенациональных и мировых программ по адаптации хозяйственной и природоохранной деятельности к изменению климата.

Ключевые слова: альянс ботанических садов по изменению климата, ассортимент растений, сезонные показатели, сохранение биоразнообразия, температурные аномалии, технологии культивирования

Для цитирования: Солтани, Г. А. Климатические изменения и деятельность ботанических садов / Г. А. Солтани // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 491–496. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-491-496>

Galina A. Soltani

Sochi National Park, Sochi, Russian Federation

CLIMATE CHANGE AND THE ACTIVITIES OF BOTANICAL GARDENS

Abstract. Problems and prospects of botanical gardens in a changing climate are discussed in the article. An increase in the average annual surface air temperature, changes in seasonal indicators and the length of the growing season require action from botanical gardens. Decisions on the management of natural and man-made ecosystems, with the aim of their conservation and sustainable development, must be taken taking into account the ecological situation. The knowledge and experience concentrated in botanical gardens makes it possible to assess the threats and opportunities for climate change and develop adaptation measures to them. All activities of botanical gardens should be aimed at counteracting climate change, include preventive measures based on the expected plant responses and compensatory measures. Research work in all areas should take into account the situation with changing climatic parameters. Special attention should be paid to endemic rare and endangered species, historical landscapes, and changes in the assortment of resistant species, cultivation technologies, and biological invasions. Botanical gardens must be proactive by providing information, plant materials and technologies for national and global climate change adaptation programs.

Keywords: climate change alliance of botanic gardens, plant assortment, seasonal indicators, biodiversity conservation, temperature anomalies, cultivation technologies

For citation: Soltani G. A. Climate change and the activities of botanical gardens. *Vestsy Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 491–496 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-491-496>

Введение. Климатические изменения – один из главных вызовов современности. Нарушения температурного и влажностного режимов ведут к трансформации природной растительности, снижению устойчивости биоценозов, исчезновению эндемичных редких видов, усилению распространения инвайдеров, изменяя в целом среду обитания человека. При этом открываются новые возможности по интродукции и культивированию ценных видов растений.

Цель исследований – определить роль ботанических садов в системе адаптации к климатическим изменениям. В задачи входило выявить угрозы и возможности в результате изменения экологической ситуации и выработать критерии для разработки стратегии и тактики ботанических садов.

Объекты и методы исследования. Значительная часть исследований ботанических садов (Садов) посвящена сохранению, устойчивому развитию и управлению биоразнообразием природных и городских экосистем. Это вопросы интродукции, селекции, озеленения городов, биологических инвазий, сохранения редких и исчезающих видов, которые должны рассматриваться комплексно, с учетом прогнозируемых изменений климата.

Сотрудниками ботанических садов накоплено достаточно знаний и опыта, чтобы оценить угрозы и возможности при климатических изменениях и разработать меры адаптации к ним.

Проблема изменения климата и участия Садов в ее решении активно обсуждается на мировом уровне с конца XX в. [1, 2]. В декабре 2018 г. в Королевском ботаническом саду Мельбурна состоялся первый саммит по изменению климата, в котором приняли участие 13 ботанических садов мира. На нем было заявлено, что «проблемы, с которыми сталкивается наш мир в результате изменения климата, беспрецедентны и безграничны. Ботанические сады мира являются хранителями необходимых научных и агрономических знаний». По утверждению доктора Дейва Кендала, старшего преподавателя кафедры экологического менеджмента Тасманийского университета, «в ближайшие 50 лет 20–50 % современных видов растений в ботанических садах и городских ландшафтах, скорее всего, окажутся под влиянием необычных для них температур». Созданный альянс Climate Change Alliance of Botanic Gardens [3] разрабатывает инструменты оценки глобальных климатических рисков и меры противодействия, которые могут применять Сады.

Результаты и их обсуждение. Изменение климатических параметров (получение растениями количества тепла и влаги, а также их распределение на протяжении различных сезонов года) происходит неравномерно [4], с усилением тенденций в сторону полюсов.

Начало XXI в. (2000–2012 гг.) в среднем по земному шару остается самым теплым 12-летием за период инструментальных наблюдений с 1886 г. [5] (рис. 1).

Продолжительность вегетационного периода в Северном полушарии увеличивается с 1950 г. Особенно значительным этот процесс был в 1980–2011 гг., когда тренд составил 0,029 сут/год,

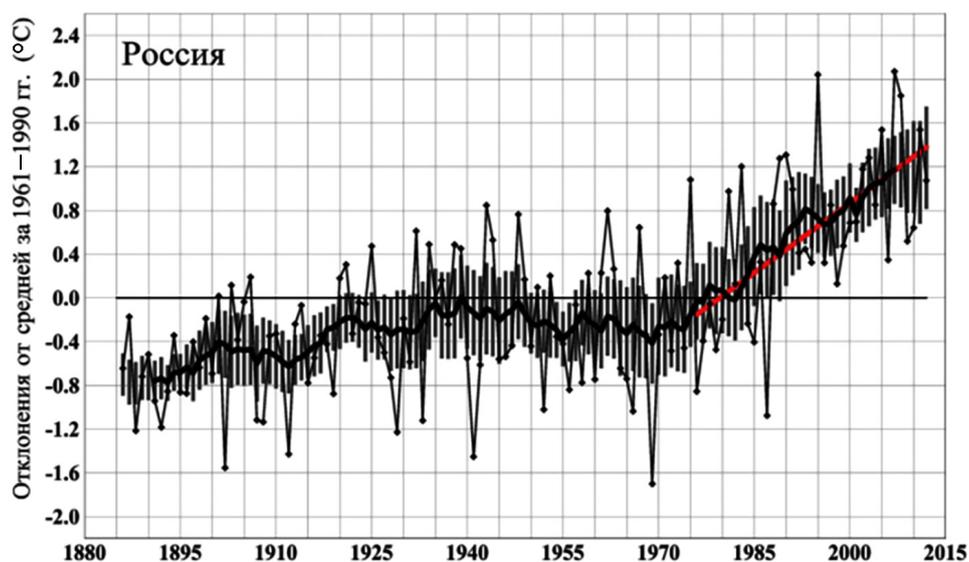


Рис. 1. Изменения аномалий среднегодовой температуры приземного воздуха, осредненной по территории России, в течение 1886–2012 гг. Красная линия – тренд за 1976–2012 гг. [5]

Fig. 1. Changes in the anomalies of the average annual surface air temperature averaged over the territory of Russia during 1886–2012. Red line – trend for 1976–2012 [5]

а в среднем по Евразии — 0,04 сут/год. Все изменения объясняются повышением температуры воздуха. По оценкам Росгидромета, из-за увеличения содержания CO₂ в атмосфере за период с 1980 по 2010 г. скорость фотосинтеза увеличилась на 5–10 %. С 1973 по 2010 г. в лесах России вдвое увеличилась площадь очагов размножения вредных насекомых и болезней [6].

Как отмечено в докладе Росгидромета за 2020 г. [7], «прошедший год оказался экстремально теплым как в России, так и в целом по земному шару». Осредненная по территории России среднегодовая аномалия температуры воздуха (отклонение от среднего значения за 1961–1990 гг.) (рис. 2) составила +3,22 °С, что более чем на 1° выше предыдущего максимума 2007 г.

Климатологи отмечают, что происходит не просто равномерное повышение температуры, а изменение сезонных показателей. Так, лето прогнозируется более жарким и сухим, осень – теплой и затяжной, зима – суровой, с обилием осадков, а весна – продолжительной и холодной. Колебания среднесезонных температур становятся более выраженными, чем среднегодовых [8–10] (рис. 2).

Скорость потепления в среднем по России значительно превосходит среднюю по земному шару и составляет для того же периода 1976–2020 гг. 0,51 °С за десятилетие. Хотя в целом по России наблюдается рост осадков, в южной половине Европейской части России в летний период отмечается негативная тенденция: на фоне быстрого роста средних температур происходит уменьшение влагообеспеченности, что увеличивает риск засухи.

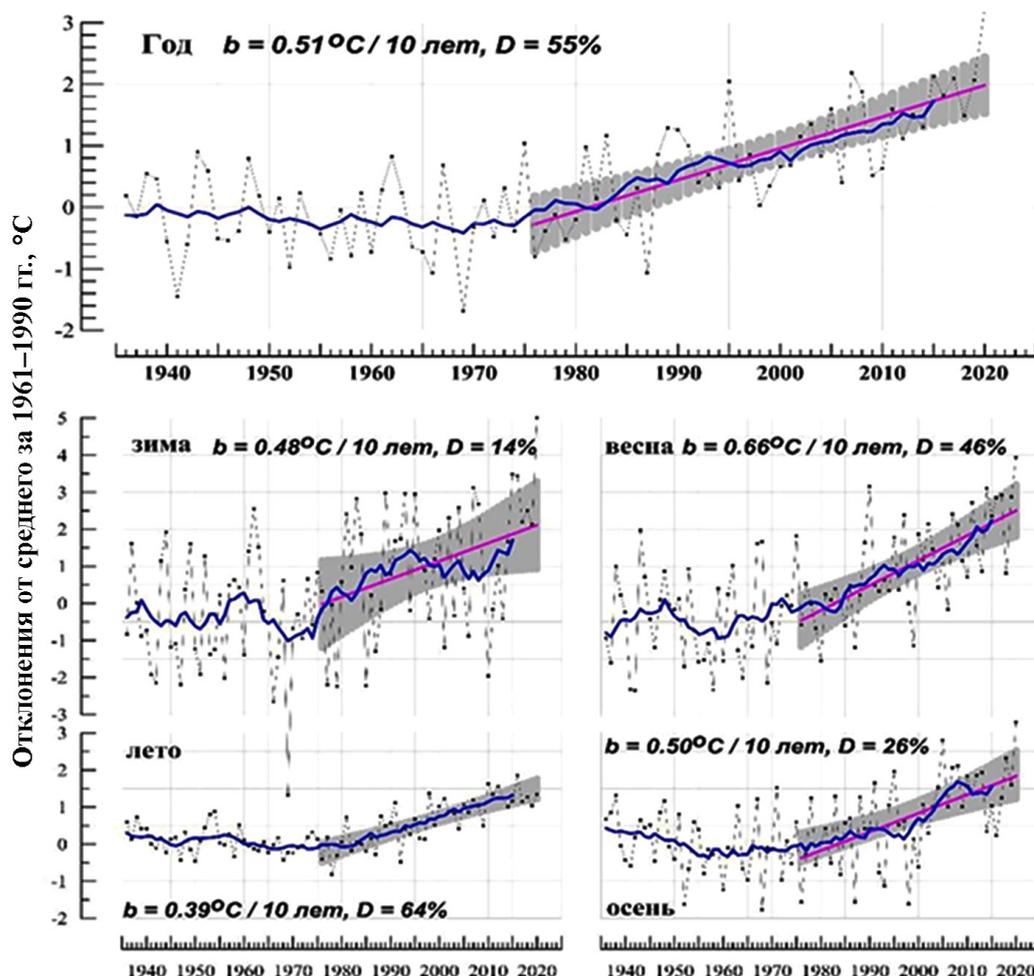


Рис. 2. Средние годовые (вверху) и сезонные аномалии температуры приземного воздуха (°С) с 1936 по 2020 г., осредненные по территории России. Базовый период – 1961–1990 гг., линейный тренд – 1976–2020 гг.; b – коэффициент тренда (°С/10 лет) [7]

Fig. 2. Average annual (top) and seasonal anomalies of surface air temperature (°C) from 1936 to 2020, averaged over the territory of Russia. Base period – 1961–1990, linear trend – 1976–2020; b – trend coefficient (°C/10 years) [7]

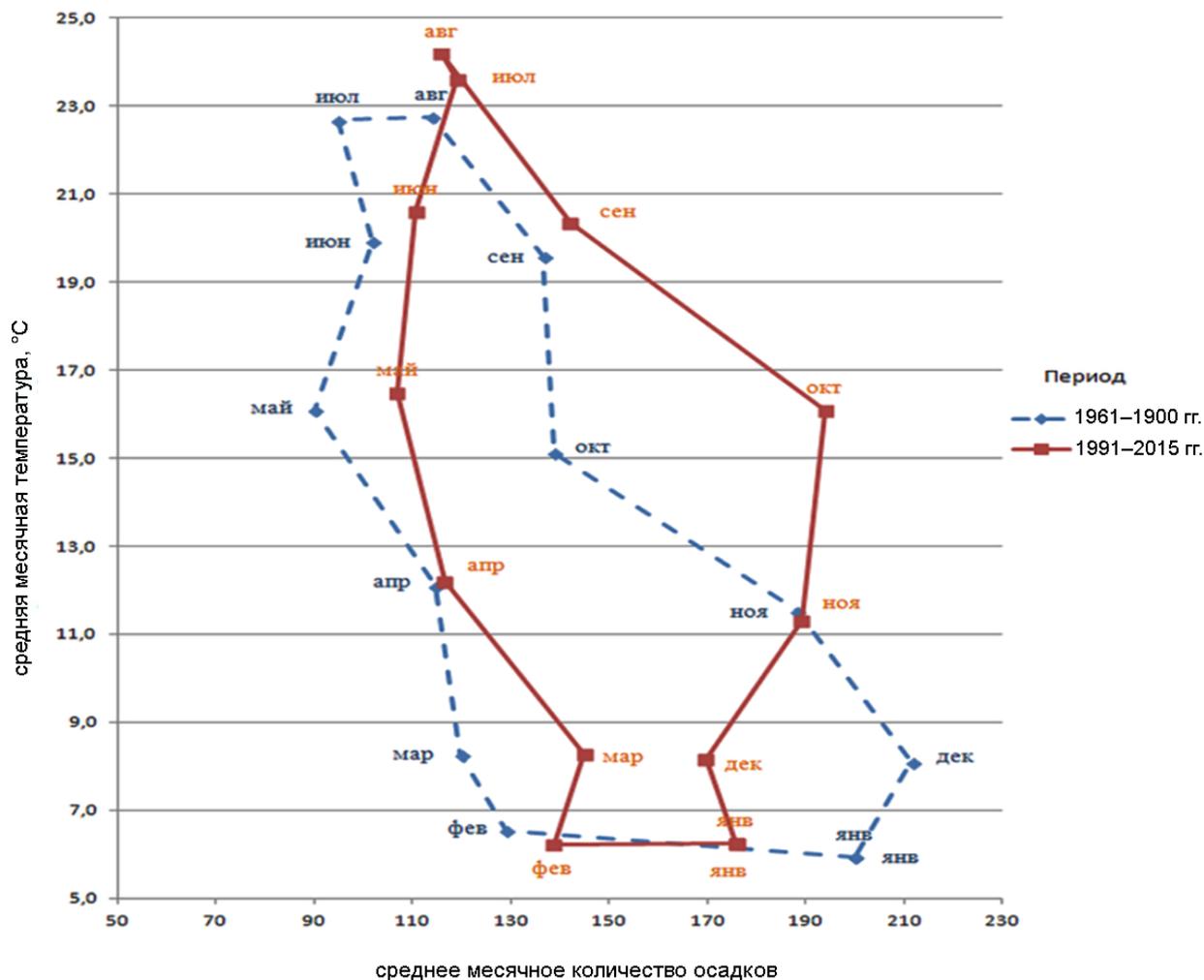


Рис. 3. Климатограммы базового и текущего периодов (Сочи) [10]

Fig. 3. Climatograms of the base and current periods (Sochi) [10]

Растительность является отражением климата. Поэтому обостряются следующие актуальные на сегодняшний день проблемы:

- изменение динамики лесорастительных процессов;
- усиление сукцессионных процессов;
- изменение ареалов;
- изменение вегетационного периода и фенологии растений;
- повышение уязвимости узкоэндемичных видов, требующих особого внимания Садов;
- повышение повреждаемости ослабленных растений вредителями и болезнями;
- изменение состава и распространения инвазивных вредителей;
- изменение состава и распространения чужеродных видов флоры;
- изменение тенденций растениеводства;
- изменение состава мероприятий и агротехнических приемов возделывания культур;
- изменение ассортимента традиционно культивируемых растений;
- изменение ассортимента устойчивых растений;
- трансформация коллекций Садов в результате гибели растений от засух, избыточного увлажнения, заморозков;
- сохранение исторических ландшафтов, в том числе объектов историко-культурного наследия;
- изменение затрат на содержание Садов.

Помимо проблем у Садов возникнут и новые возможности, которые необходимо использовать:

возрастание интереса к ботаническим садам;
перспективы культивирования новых видов;
увеличение объема производства и продаж с учетом изменяющихся климатических условий.

Программой фундаментальных научных исследований Совета ботанических садов России на период 2020–2025 гг. предусмотрены исследовательские работы по теме «Биоразнообразие растений в связи с экологической и продовольственной безопасностью регионов в условиях глобального изменения климата и антропогенного воздействия», включающие следующие разделы:

- Разработка общей методологии прогноза устойчивости и продуктивности растений в условиях глобальных изменений климата на основе сравнительного анализа их морфофизиологических параметров в различных условиях Садов.
- Выявление параметров чувствительности отдельных видов и сообществ растений к глобальному изменению климата на локальном, ландшафтном и региональном уровнях.
- Экспериментальное изучение влияния основных климатогеографических и гелиофизических факторов среды на устойчивость и продуктивность хозяйственно-ценных растений.
- Разработка принципов и технологий восстановления нарушенных экосистем и рекультивации нарушенных земель в условиях глобального изменения климата и техногенного воздействия.
- Разработка принципов и технологий защиты инженерных конструкций и технологических материалов от повреждений растениями в условиях глобального изменения климата.
- Изучение закономерностей экологической устойчивости экосистем урбанизированных территорий.
- Разработка принципов, методов и технологий защиты растений в открытом и защищенном грунте.

Заключение. Основываясь на указанных исследованиях, необходимо осуществлять практические действия в каждом конкретном регионе:

увеличивать площадь насаждений для противодействия изменениям глобального климата и оптимизации микроклимата;

разрабатывать меры по сохранению естественной растительности с учетом изменения климатических параметров среды, включая определение резерватов, подбор мест закладки всех видов лесных культур;

использовать максимальное разнообразие видов для создания насаждений;

активизировать работу по ранжированию видов растений: тех, которые попадут под угрозу вымирания, тех, положение которых улучшится, и тех, на которые эти изменения не повлияют;

поддерживать уязвимые виды: проводить репатриацию, реинтродукцию, вводить в культуру, закладывать банки семян и т. п.

в соответствии с изменяющимися климатическими параметрами проводить отбор видов, устойчивых к изменениям погоды и экстремальным погодным явлениям;

проводить оценку инвазивности экзотов текущего и предыдущих этапов интродукции с учетом мировых данных о их распространении в других регионах;

интродукцию вести на опережение, разрабатывая новый сортимент культур для возделывания и озеленения;

разрабатывать новые агротехники, учитывая изменение продолжительности периодов вегетации и количества осадков, в том числе кратность покоса, обработок, внесения удобрений;

вводить необходимые агротехнические мероприятия по нейтрализации климатических изменений, такие как системы водоотведения, водонакопления;

управлять фитосанитарным состоянием в экосистемах ботанических садов;

обращать внимание на переработку и использование растительных остатков.

Ботанические сады должны работать на опережение, предоставляя обществу и правительству информацию о прогнозируемых изменениях и путях их решения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Primack, R. The role of botanical gardens in climate change research: Tansley review [Electronic resource] / R. Primack, A. Miller-Rushing // *New Phytologist*. – 2009. – Vol. 182, N 2. – P. 303–313. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02800.x>
2. Webster, E. Gardening in a changing climate [Electronic resource] / E. Webster, R. Cameron, A. Culham. – Mode of access: <https://www.rhs.org.uk/science/pdf/RHS-Gardening-in-a-Changing-Climate-Report.pdf>. – Date of access: 09.02.2021.
3. Climate change alliance of botanic gardens [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.rbg.vic.gov.au/initiatives/climate-change-alliance>. – Date of access: 09.02.2021.
4. Rybak, E. A. Regional effects of the global climate change; a case study: the Sochi National park area (Russia) / E. A. Rybak, O. O. Rybak // *Nat. Conserv. Res.* – 2017. – Vol. 2, N 3. – P. 61–67. <https://doi.org/10.24189/ncr.2017.043>
5. Второй Оценочный доклад Росгидромета об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации: техн. резюме / ред. гр. : В. В. Ясюкевич, В. А. Говоркова, И. А. Корнева, Т. В. Павлова, Е. Н. Попова. – М. : Росгидромет, 2014. – 94 с.
6. Второй Оценочный доклад Росгидромета об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации: общее резюме / ред. : В. В. Ясюкевич, В. А. Говоркова, И. А. Корнева, Т. В. Павлова, Е. Н. Попова. – М. : Росгидромет, 2014. – 58 с.
7. Доклад об особенностях климата на территории Российской Федерации за 2020 год [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.meteorf.ru/upload/pdf_download/doklad_klimat2020.pdf. – Дата доступа: 09.02.2021.
8. Корсакова, С. П. Методологические основы экологического моделирования и прогнозирования реакции растений на изменения климата : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.08 / С. П. Корсакова ; Никит. бот. сад – нац. науч. центр РАН. – Ялта, 2019. – 46 с.
9. Рыбак, Е. А. Региональные проявления глобальных климатических изменений (на примере Сочинского национального парка) / Е. А. Рыбак, О. Н. Рыбак // *Сочинскому национальному парку – 35 лет : тр. Сочин. нац. парка / отв. ред. Б. С. Туниев*. – Сочи, 2018. – Вып. 12. – С. 68–81.
10. Солтани, Г. А. Влияние изменения климата на растительность Черноморского побережья Кавказа / Г. А. Солтани, И. В. Анненкова // *Устойчивое развитие особо охраняемых природных территорий : сб. ст. VI Всерос. науч.-практ. конф. (2–4 окт. 2019 г., Сочи)*. – Сочи, 2019. – Т. 6. – С. 288–295.

References

1. Primack R., Miller-Rushing A. The role of botanical gardens in climate change research: Tansley review. *New Phytologist*, 2009, vol. 182, no. 2, pp. 303–313. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02800.x>
2. Webster E., Cameron R., Culham A. *Gardening in a changing climate*. Available at: <https://www.rhs.org.uk/science/pdf/RHS-Gardening-in-a-Changing-Climate-Report.pdf> (accessed 09.02.2021).
3. *Climate change alliance of botanic gardens*. Available at: <https://www.rbg.vic.gov.au/initiatives/climate-change-alliance> (accessed 09.02.2021).
4. Rybak E. A., Rybak O. O. Regional effects of the global climate change; a case study: the Sochi National park area (Russia). *Nature Conservation Research*, 2017, vol. 2, no. 3, pp. 61–67. <https://doi.org/10.24189/ncr.2017.043>
5. Yasyukevich V. V., Govorkova V. A., Korneva I. A., Pavlova T. V., Popova E. N. (eds.). *Second Assessment Report of Roshydromet on climate change and their consequences on the territory of the Russian Federation. Technical Summary*. Moscow, Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring, 2014. 94 p. (in Russian).
6. Yasyukevich V. V., Govorkova V. A., Korneva I. A., Pavlova T. V., Popova E. N. (eds.). *Second Assessment Report of Roshydromet on climate change and their consequences on the territory of the Russian Federation. General Summary*. Moscow, Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring, 2014. 58 p. (in Russian).
7. *A report on climate features on the territory of the Russian Federation in 2020*. Available at: http://www.meteorf.ru/upload/pdf_download/doklad_klimat2020.pdf (accessed 09.02.2021) (in Russian).
8. Korsakova S. P. *Methodological foundations of ecological modeling and forecasting of plant response to climate change. Abstract of Ph. D. diss.* Yalta, 2019. 46 p. (in Russian).
9. Rybak E. A., Rybak O. N. Regional manifestations of global climatic changes (on the example of the Sochi National Park). *Sochinskomu natsional'nomu parku – 35 let: trudy Sochinskogo natsional'nogo parka. Vypusk 12* [Sochi National Park – 35 years: Proceedings of the Sochi National Park. Iss. 12]. Sochi, 2018, pp. 68–81 (in Russian).
10. Soltani G. A., Annenkova I. V. The impact of climate change on the vegetation of the Black Sea coast of the Caucasus. *Ustoichivoe razvitie osobo okhranyaemykh prirodnykh territorii: sbornik statei VI Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (2–4 oktyabrya 2019 goda, Sochi). Tom 6* [Sustainable development of specially protected natural areas: collection of articles of the VI All-Russian scientific and practical conference (October 2–4, 2019, Sochi). Vol. 6]. Sochi, 2019, pp. 288–295 (in Russian).

Информация об авторе

Солтани Галина Александровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Сочинский национальный парк (Курортный пр., 74, 354002, г. Сочи, Российская Федерация). E-mail: soltany2004@yandex.ru

Information about the author

Galina A. Soltani – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Sochi National Park (74, Kurortny Ave., 354002, Sochi, Russian Federation). E-mail: soltany2004@yandex.ru

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

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 577
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-497-512>

Поступила в редакцию 09.06.2021
Received 09.06.2021

**М. М. Терехова¹, В. М. Абашкин¹, В. А. Жогла¹, И. В. Галец-Буй¹, С. Ж. Лозникова¹,
М. Брышевска², М. Ионов², И. Вацуликова³, Ж.-П. Мажораль⁴, Д. Г. Щербин¹**

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

²Лодзьский университет, Лодзь, Польша

³Университет имени Я. А. Коменского, Братислава, Словакия

⁴Университет Тулузы, Тулуза, Франция

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИАМИДОАМИННЫХ ДЕНДРИМЕРОВ
И АМФИФИЛЬНЫХ ДЕНДРОНОВ С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ**

Аннотация. Полиамидоаминовые (ПАМАМ) дендримеры и амфифильные дендроны представляют собой вид наноматериалов, отличающихся гиперразветвленной структурой полимерных ветвей. В случае дендримеров дендроны ковалентно связаны в центральной фокальной точке. В отсутствие ковалентного связывания амфифильные дендроны с помощью гидрофобных взаимодействий формируют мицеллярные структуры. Данные наночастицы нашли широкое применение в биологии и медицине в качестве контрастных агентов, носителей лекарственных препаратов и генетического материала. Использование их в научной практике требует понимания механизмов взаимодействия с мембранами, которые являются основным препятствием для входа дендримеров в клетку. В данном обзоре обсуждены закономерности взаимодействия дендримеров и амфифильных дендронов с липидными мембранами. Описаны различные модели дендример-мембранных взаимодействий, позволяющие понять особенности вхождения дендримеров и амфифильных дендронов в клетки.

Ключевые слова: полиамидоаминовые дендримеры, амфифильные дендроны, липосомы, клетки, противоопухолевые препараты, антибактериальные агенты, диагностика, генетическая терапия

Для цитирования: Взаимодействие полиамидоаминовых дендримеров и амфифильных дендронов с липидными мембранами / М. М. Терехова [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 497–512. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-497-512>

**Maria M. Terehova¹, Viktor M. Abashkin¹, Victoriya A. Zhogla¹, Inessa V. Halets-Bui¹, Svetlana Zh. Loznikova¹,
Maria Bryszewska², Maksim Ionov², Iveta Waczulikova³, Jean-Pierre Majoral⁴, Dzmitry G. Shcharbin¹**

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

²University of Lodz, Lodz, Poland

³Comenius University, Bratislava, Slovakia

⁴University of Toulouse, Toulouse, France

**INTERACTION OF POLYAMIDOAMINE DENDRIMERS AND AMPHIPHYLIC DENDRONS
WITH LIPID MEMBRANES**

Abstract. Polyamidoamine (PAMAM) dendrimers and amphiphilic dendrons are one of the types of nanomaterials characterized by a hyperbranched structure of polymer branches. In the case of dendrimers, the dendrons are covalently linked at the central focal point. In the case of amphiphilic dendrons, dendrons are non-covalently linked by hydrophobic interactions, forming micellar structures. These nanoparticles are widely used in biology and medicine as contrast agents, carriers of drugs and genetic material. Their use in scientific practice requires an understanding of the basic mechanisms of their interaction with membranes – the main obstacle to the entry of dendrimers into the cell. This review discusses the regularities of the interaction of dendrimers and amphiphilic dendrons with lipid membranes. Various models of dendrimer-membrane interactions are described as the basis for the penetration of dendrimers and amphiphilic nanoparticles into cells.

Keywords: polyamidoamine dendrimers, amphiphilic dendrons, lipid membranes, cells, antitumor therapeutics, antibacterial agents, diagnostics, genetic therapy

For citation: Terehova M. M., Abashkin V. M., Zhogla V. A., Halets-Bui I. V., Loznikova S. Zh., Bryszewska M., Ionov M., Waczulikova I., Majoral J.-P., Shcharbin D. G. Interaction of polyamidoamine dendrimers and amphiphilic dendrons with lipid membranes. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 497–512 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-497-512>

Установление закономерностей взаимодействия полиамидаминных (ПАМАМ) дендримеров с липидными мембранами позволяет понять механизмы их вхождения в клетки человека и животных. Чжан и Смит [1] исследовали взаимодействие ПАМАМ дендримеров с везикулами, используя в качестве модели липидного бислоя анионные липидные однослойные везикулы. Изучение влияния нескольких поколений ПАМАМ дендримеров (с 4-й по 7-ю) на стабильность данных везикул показало, что все дендримеры способны разрушать анионные везикулы. Разрушающая способность возрастала с увеличением поколения и сильно зависела от мембранного состава. При этом везикулы из фосфатидилэтаноламина (ФЭ) разрушались практически мгновенно, однако везикулы из фосфатидилхолина (ФХ) и даже смешанные везикулы с высокой долей ФХ были защищены от разрушения. Это объясняет некоторые различия в эффективности трансфекции и цитотоксичности дендримеров, наблюдаемые для разных клеток. Предполагают, что решающее значение имеют две особенности дендримеров: положительный заряд и шаровидная форма. ^{31}P -ЯМР эксперименты показали, что дендримеры 7-й поколения действовали как почти сферический поликатионный белок – цитохром с. Кроме того, полилизин, который также является катионным, но линейным, не обладает способностью разрушать мембрану. Основываясь на своих экспериментах, Чжан и Смит сформулировали гипотезу, объясняющую, как действуют дендримеры. Они исключили вариант, когда дендримеры разрушают мембрану, действуя по механизму ионных детергентов. Наружная поверхность крупных дендримеров была слишком плотно упакована, чтобы в нее могли проникнуть фосфолипиды. Авторы предположили, что дендримеры вызывают изгиб мембраны и создают локальную область обратной кривизны, а кроме того, они облегчают смешивание липидов путем электростатической стабилизации этих обратно изогнутых поверхностей. Позже Каронутаисири с соавт. [2] сообщили о взаимодействии ПАМАМ дендримеров с 1-й по 8-ю поколениями с везикулами из ФЭ, показав, что липидный бислой, содержащий ФЭ, подвержен разрушению при инкубации с дендримерами. Напротив, фосфатидилсеринсодержащие липосомы не повреждались при действии на них дендримеров.

Оттавиани с соавт. [3], изучив взаимодействие между ПАМАМ дендримерами и мультиламеллярными везикулами из димиристоилфосфатидилхолина (ДМФХ), обнаружили, что дендримеры взаимодействуют с поверхностью мембраны, не нарушая существенно ее свойства. Однако протонированные дендримеры более эффективно взаимодействовали с везикулами, а их высокие поколения вызывали больше повреждений [4]. В присутствии дендримеров подвижность бислоя увеличивалась вблизи полярных головок липидов и оставалась практически неизменной в остальной части цепи. Протонированные дендримеры имели более сильные взаимодействия с везикулами и вызывали набухание структуры везикулы.

Известно, что клеточные мембраны характеризуются неоднородностью состава. Чтобы лучше имитировать эти условия, были получены смешанные везикулы [5], состоящие из ДМФХ и его фосфатидилхолатной соли (ДМФХ-Na), которая представляет собой отрицательно заряженный фосфолипид. Два мембранных спиновых зонда были введены в везикулы для мониторинга изменений внутри бислоя. Один из них был расположен рядом с отрицательно заряженным слоем полярных головок липидов везикул (4-(N, N-диметил-N-пентадецил)-аммоний-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксилиодид), а другой – в липидном гидрофобном слое (5-доксилстеариновые кислоты). Установлено, что дендримеры связываются с поверхностью липосом благодаря взаимодействию между фосфолипидными головками и собственными аминогруппами. Неудивительно, что самые большие изменения наблюдались у протонированных дендримеров. Эти исследования позволили сформулировать модель взаимодействия между везикулами и дендримерами, в соответствии с которой характер этого взаимодействия зависит от числа поколений. Для больших дендримеров липидный бислой изгибается таким образом, что предотвращаются прямые взаимодействия между заряженными группами дендримера и везикулы, тогда как малые и гибкие дендримеры непосредственно взаимодействуют с везикулой, не вызывая таких нарушений в двухслойной форме [3–6].

Мекке и его коллеги [7–10], изучив влияние ПАМАМ дендримеров и тестодендримеров 7-й поколения на липидный бислой, обнаружили различия между ПАМАМ и тестодендримерами,

которые заключались в их разном суммарном поверхностном заряде: первые имели ответвления с концевыми аминокруппами, а вторые – разветвленные карбокси-ответвления. На поверхности слюды образовывался липидный бислой, содержащий ДМФХ, и добавлялись дендримеры в различных концентрациях. Добавление дендримеров привело к образованию отверстий диаметром 15–40 нм. При этом увеличение концентрации ПАМAM 7-й генерации (10, 40, 100 нМ) приводило к постепенному увеличению числа отверстий в липидном бислое. Исследование тестодендримеров, нанесенных на бислои ДМФХ с помощью инъекции, показало, что дендримеры связываются с краями дефектов бислоя. Авторы предположили, что образование отверстий можно объяснить наличием механизма поглощения биомолекул, опосредованного дендримером. Модель механизмов связывания дендримеров различных генераций с липидами наглядно показана на рис. 1.

Только 5-я генерация неацетилованных ПАМAM дендримеров индуцировала значительное образование пор, что соответствовало экспериментальным результатам, которые показали, что неацетилованные дендримеры, в отличие от ацетилованных, расширяют двухслойные отверстия [9]. Кроме того, положительно заряженные дендримеры ПАМAM 5-й генерации удаляли молекулы липидов с краев существующих дефектов бислоя, в то время как нейтральные адсорбировались на краях существующих двухслойных дефектов, не оказывая влияния на бислой [10].

Кинетика взаимодействия ПАМAM дендримеров (2, 4 и 6-й генераций) с нанесенными липидными бислоями 1,2-sn-глицеродимиристоилфосфохолина была изучена Парими с соавт. [10]. Константа скорости разрушения дендримером бислоя (при 1 и 100 нМ) соответствует порядку 6-я>4-я>2-я генерации. Напротив, константа скорости для адсорбции при 10 нМ следует порядку 2-я>4-я>6-я генерации. Атомно-силовая микроскопия подтвердила увеличение дефектов липидного бислоя, образование дырок и адсорбцию на дефекты бислоя или сам бислой, а также на их концентрацию и зависимость от генерации [10].

Клайнерт с соавт. [12, 13], изучив взаимодействие между дендримерами и модельными бислоями с использованием ДСК, установили влияние трех различных типов дендримеров на термотропное поведение малых однослойных везикул из дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) и ДМФХ. Использовали три типа ПАМAM дендримеров 3-й генерации: amino-концевые дендримеры; CH_3 -дендримеры, имеющие поверхностные гексиламидные группы; ПАМAM- $\text{C}_{12}^{50\%}$ дендримеры, обладающие 50 % аминокрупп и 50 % N-(2-гидроксидодецил) групп. Тестируемая концентрация варьировалась от 0,1 до 10 мол. %. Во время нагревания липосомы ДПФХ демонстрировали два эндотермических перехода: широкий предпереход с низкой энтальпией и острый основной переход. Основной переход является следствием превращения гелевой фазы в жидкокристаллическую. Как правило, предпереход был наиболее чувствительным к присутствию дендримеров. Вероятно,

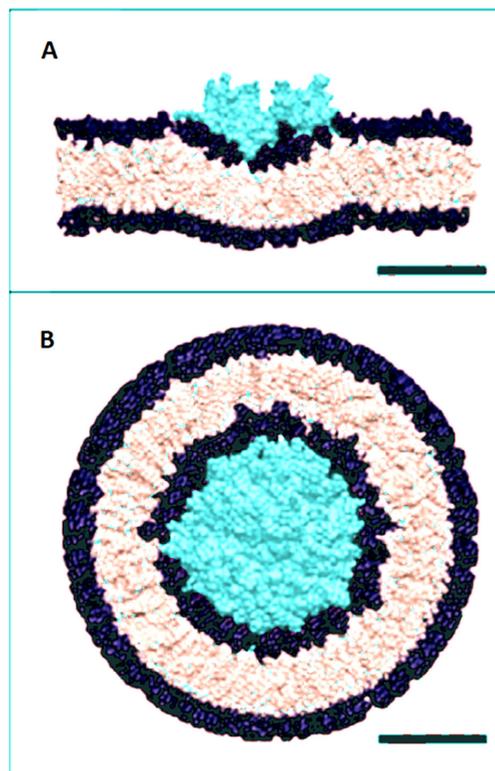


Рис. 1. Модель уплощенного дендримера, связывающегося с бислоем, и модель дендримерных везикул – дендример-липидных комплексов (B). Более крупные дендримеры (генерация >6) были заключены в липиды, тогда как меньшие дендримеры (генерация <6) деформировались относительно бислоя и способствовали кривизне мембраны. Дендримеры 5-й генерации (A) и 7-й генерации (B) изображены бирюзовым цветом, гидрофильные головки липидов – темно-синим, гидрофобные хвосты – светло-розовым (адаптировано из статьи [11])

Fig. 1. Flattened-dendrimer model (A) and dendrimer-encased vesicle model of dendrimer lipid complexes (B). Larger dendrimers (>G6) become encased by a lipid vesicle, while small and medium dendrimers (<G6) flatten over the membrane and induce slight membrane curvature. G5 (A) and G7 (B) are colored cyan, the hydrophilic head groups – navy blue and the hydrophobic tails – light magenta (adapted from [11], copyright American Chemical Society, 2009)

это было следствием того, что дендример встраивался в бислою, вызывая увеличение расстояния между молекулами фосфолипидов и устраняя стерическое взаимодействие головок липидов. Анализ ширины пика на половине высоты позволил определить влияние дендримеров на кооперативность фазового перехода. Наибольшее снижение кооперативности наблюдалось в присутствии ПАМAM-С₁₂^{50%} дендримеров. Вероятно, это было связано с наличием длинных гидроксидодецильных цепей на поверхности дендримеров, которые могли глубоко проникать в гидрофобное ядро бислоя. Многие параметры, например энтальпия предпереходов, менялись после каждого цикла нагрева и охлаждения. Это свидетельствует о том, что дефекты образуются при нескольких изменениях температуры фазового перехода в ДСК, что обеспечивает большее проникновение дендримера в бислою. Пик асимметричного основного перехода указывает на неравномерное распределение молекул дендримера и образование доменов с большим или меньшим содержанием дендримеров. Расположение дендримеров в липидном бислое, а следовательно, и степень изменений в термотропном поведении, которые они вызывали, зависели от типа дендримеров. Гидрофильные ПАМAM дендримеры с концевыми аминогруппами, вероятно, расположены рядом с полярными липидными головками, с которыми они и взаимодействуют. Наличие длинных цепей на поверхности ПАМAM-С₁₂^{50%}, по-видимому, является причиной разрушения бислоя. Дендримеры ПАМAM-СН₃ индуцировали меньшие изменения в структуре бислоя, поскольку, представляя собой плоские эллипсоидные молекулы, они вполне могли размещаться в гидрофобной части бислоя, не вызывая потери целостности.

Ломбардо с соавт. [14] исследовали процессы самосборки смеси заряженных ПАМAM дендримеров и липидов ДПФХ с помощью дзета-потенциала, комбинационного рассеяния света и рентгеновского рассеяния. Молекулярное моделирование между бислоями ДМФХ и ПАМAM дендримерами показано на рис. 2. Цвиттерийонные липосомы ДПФХ показали существенно различное поведение во время взаимодействия с отрицательно заряженными (генерация 2,5) дендримерами с концевыми группами карбоксилата натрия (СОО-Na⁺) или положительно заряженными

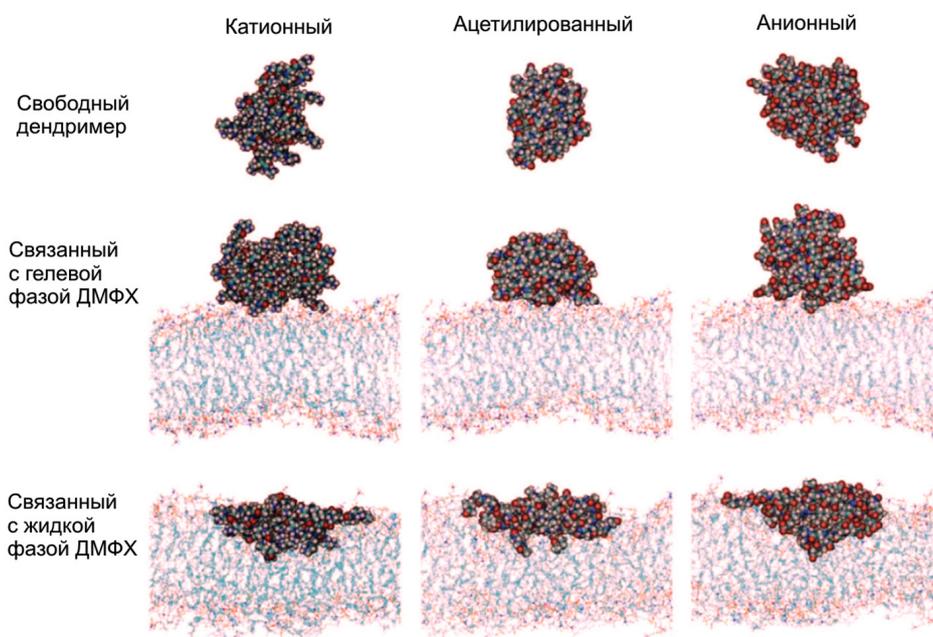


Рис. 2. Молекулярное моделирование между бислоями ДМФХ и ПАМAM дендримерами 3-й генерации с различными концевыми группами, включая катионную (G3-NH₃⁺), нейтральную (G3-Ac) и анионную (G3-COO⁻). Моделирование выявляет различия в морфологии дендримеров, взаимодействующих с гелевыми или жидкими бислоями (адаптировано из статьи [15])

Fig. 2. Snapshots of atomistic MD simulations between DMPC bilayers and G3 PAMAM with various terminal groups including protonated amine (G3-NH₃⁺), neutral acetamide (G3-Ac), and deprotonated carboxylic acid (G3-COO⁻). The simulations reveal the differences in the morphologies of dendrimers interacting with either gel or fluid phase bilayers (adapted from [15], copyright American Chemical Society, 2008)

(генерацыя 3) дендримераў з канцевымі амінагрупамі ($-\text{NH}_2$). Такім образом, атрычаныя рэзультаты сведчаць аб чутлівых узаемадзействах паміж канцамі дендримераў і ліпіднымі малекуламі на паверхні ліпосомы з павышэннем дзэта-патэнцыяла паверхні ліпосом, а таксама ў гідрафобнай абласці бислоев, дзе пранікненне дендримераў выклікае парушэнне іх гідрафобных алкільных ланцужкоў. Аналіз структурнага фактара рэнтгенаўскага рассеяння з дапамогай падыходзячай мадэлі для электростатычнага патэнцыяла дендримераў дазваляе ацаніць эфектыўны зарад у 15e для 2,5-й генерацыі і ў 7,6e для ПАМАМ дендримераў 3-й генерацыі. Толькі частка (каля 1/7) гэтага зарада ўносіць уклад у лінейнае павелічэнне дзэта-патэнцыяла ліпосом з павелічэннем молярнай долі ПАМАМ/ДПФХ [14].

Абнарыжана таксама, што ўключэнне ПАМАМ дендримераў 3,5-й і 4-й генерацыяў у бислоі ДПФХ выклікае павелічэнне тэкучасці мембраны і моцнае ўзаемадзейства як з ліпафільнай часткай бислоев, так і з палярнымі групамі галоўкі фосфаліпідаў [14]. Клайнерт з саавт. [13] іспользавалі ДСК і круговай дыхроізм для ўвучэння ўзаемадзейства паміж пептыднымі (лізіновымі) дендримераў і ліпідным бислоем. Структура ўвучаных лізіновых дендримераў характэрызуецца двума сіметрычнымі вярэвямі пераменнай даўжыні, аканчываючыміся ароматычнымі астаткамі, і адной ароматычнай бокавой групай (Туг, Phe і бензіламін), распаложанай на С-канцы ядра лізіна. Гэты дендримеры мелі ярка выражаную вторічную структуру, якая наблідалася ў спектрах іх круговага дыхроізма. Раней было паказана, што вторічная структура пептыдаў яўляецца адной з дэтэрмінантаў сілы іх ўзаемадзейства з мембранамі (напрыклад, пептыды бэта-ліста менш разрушальныя, чым іх альфа-спіральныя аналогі) [16]. У случае лізіновых дендримераў іх вторічная структура невядома, но па спектрам круговага дыхроізма дендримераў было вядома, што паміж імі існуюць структурныя адрозніжы. Гэта дазволіла аўтарам зрабіць выснова, што структура адрэдаляе ўплыванне дендримераў на мембрану і гэты эфект адпавядае парадку $R-121 > R-124 > R-169 > R-155$ [13].

Мораес з саавт. [17], ўвучыў плёнкі з дыпальмітоілфасфатідылгіцерынам (ДПФГ) і ПАМАМ дендримераў з дапамогай інфрачырвога спектраскопіі з Фур'е-пэрабраваннем, абнарыжылі, што спектр ліпосомнай двухслойнай плёнкі ПАМАМ/ДПФГ па суттэву прадстаўляе сабой суперпазіцыю ліпосомных спектраў ПАМАМ і ДПФГ. Гэта азначае, што ўзаемадзейства паміж кампанентамі плёнкі не было моцным, неспрама на тесны кантакт паміж імі. С'языванне флуорэсцэін-мечаных ПАМАМ дендримераў з мембранамі фібробластаў было ўвучана мэтадам канфокальнай флуорэсцэнтнай мікраскопіі [18]. Як і аждаалось, большыя генерацыі с'язываліся з мембранамі клетак з большым сродствам, чым большыя нізкія: ў сістэме было большы несп'язаных дендримераў 4-й генерацыі, чым 6-й. Было высказана прадпаложэнне, што большы крупныя дендримеры спосабы адначасова ўзаемадзействаваць з большым колычэствам адрыцатэльна заражэнных мембранных ліпідаў, тагда як большы мелкія дендримеры із-за агранічэнняў па размеру не могуць. Інтэрасна, што с'языванне значыльна вар'яіравалось ад клеткі да клеткі, што нельзя аб'ясніць толькі размерамі клеткі. Такім образом, адрэнаенне дажна атражаць адрэнаення ў топалогія мембраны на нанамэтравым узроўні. Асновываюся на гэтых рэзультатах, Хонг і яго калегі [18] разрабталі канцэпцыю, альтэрнатыўную гіпатэзе эндцытоза дендримераў, сагласна якой дендримеры могуць пранікаць ў клетку чэрез фарміруемыя імі адрэстыя. ПАМАМ дендримеры 5-й і 7-й генерацыяў, мечаныя флуорэсцэіновым красіцелем, лёгка пранікалі ў клеткі, што было прадэманстравана з дапамогай канфокальнай лазэрнай сканіруючай мікраскопіі, тагда як дендримеры 5-й генерацыі, мадыфіцыраваныя ацетамідам, не інтэрналізаваліся ў клеткі [10, 18]. Такім образом, важную ролю ў сіле ўзаемадзейства паміж мембранамі і дендримераў іграе не толькі размер, но і тып паверхняных груп дендримераў.

Узаемадзейства 4-й і 5-й генерацыяў гуанідыніраваных поліпропіленовых дендримераў з ліпосамамі із фосфатідылхоліна і халестэрола, ўключаючымі дгексадэцылфосфат, былі ісплёваны Сідэратоу з саавт. [19]. Большы высокая генерацыя эфектыўней с'язывалася з ліпосамамі, што абумоўлена эфектамі могавалентных груп гуанідына. Позжэ з дапамогай мэтадаў мікраскопічнага аналіза і дынамічнага рассеяння с'вета было падтвэраджэно, што малекулярнае распазнаванне паміж ліпосамамі і дендримераў індцыруецца стэпенню

гуанидинирования дендримерной поверхности и происходит вследствие взаимодействия между комплементарными фосфатными и гуанидиновыми группами [20]. При этом динамическое рассеяние света использовали для определения размеров липосом [21]. Эти размеры оставались неизменными при низких молярных отношениях гуанидина/фосфата (приблизительно до 10 %), тогда как при высоких молярных отношениях были обнаружены частицы (более 50 %) с диаметром до 2 мкм. Рост частиц в дисперсии зависел от типа взаимодействующего дендримера, а также от генерации дендримера. При комнатной температуре дендримеры более высоких генераций вызывали образование крупных агрегатов с липосомами при низких молярных отношениях: размеры дисперсных частиц почти удваивались даже при молярных отношениях 5 %. Напротив, дендримеры малых генераций индуцировали увеличение размера агрегатов выше молярных отношений 20–30 %. Следует отметить, что, вопреки ожиданиям, при низких молярных отношениях (5 %) не наблюдалось увеличения размера ацетилированных дендримеров. Это первый признак того, что в этом случае дендримеры не вызывают слияния или агрегации липосом и либо находятся в бислое, либо проникают в него [21]. Одновременно авторы проанализировали влияние дендримеров на липосомы, используя флуоресцентный зонд кальцеин [21]. Стабильность липосомных бислоев при добавлении гуанидинированных дендримеров оценивали с использованием липосом, нагруженных кальцеином. Кальцеин внутри липосом не флуоресцирует из-за самозатухания, но дает сильный флуоресцентный сигнал после высвобождения в объемную водную фазу. Установлено, что при 25 °C утечка кальцеина из липосом была незначительной (до 2,2 %) в течение 2-часового периода инкубации с дендримерами. Это указывает на незначительную зависимость от молярного отношения гуанидин/фосфат или от типа и способа образования дендримеров [21].

Рой с соавт. [22] исследовали взаимодействие ПАМАМ дендримеров различных генераций (2, 4 и 6-й) с липосомами разного состава, изучив липосомы, содержащие соевый лецитин (отрицательный поверхностный заряд), 1,2-пальмитоил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолин (умеренно положительный поверхностный заряд), 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфо-1-глицерин (отрицательно заряженный заряд). К липосомам добавляли 30 мас. % холестерина, что, как известно, позволяет контролировать текучесть бислоев. Установлено, что образование дендриосомы (комплекса, образованного между дендримером и липосомой) приводит к изменению заряда отрицательно заряженных липосом, а взаимодействие между ПАМАМ и липосомами регулируется электростатическими силами, а также водородными связями. Активность ПАМАМ, зависящая от генерации, следовала порядку 6-я > 4-я > 2-я генерации. При этом следует отметить, что порядок был обратным, когда активность ПАМАМ рассматривалась с точки зрения общих концентраций концевых групп. Исследования с помощью атомно-силовой микроскопии показали разрыв двухслойной структуры при добавлении дендримера [22].

В связи с использованием дендримеров в качестве носителей для генетического материала и лекарственных препаратов важным является исследование механизмов их входа в клетки [23, 24]. Первичным барьером клетки является мембрана. Нами проведены модельные эксперименты по изучению электрофизических свойств планарных бислоевых липидных мембран (БЛМ) на основе ФХ в присутствии катионного, анионного и нейтрального ПАМАМ дендримеров 5-й генерации [25]. Установлено, что добавление нейтрального и анионного ПАМАМ дендримеров не влияло на вольт-амперные характеристики БЛМ. Добавление катионного дендримера приво-

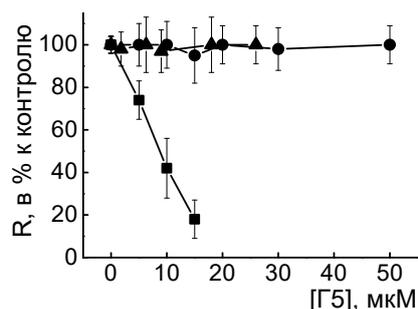


Рис. 3. Влияние дендримеров ПАМАМ-NH₂ (квадраты), ПАМАМ-OH (круги) и ПАМАМ-COOH (треугольники) 5-й генерации на сопротивление (R) БЛМ. Потенциал фиксации – 60 мВ, время записи – 20 с (адаптировано из статьи [25])

Fig. 3. The effect of PAMAM-NH₂ G5 (squares), PAMAM-OH G5 (circles) and PAMAM-COOH G5 (triangles) dendrimers on the resistance (R) of planar BLMs. Planar BLMs (Muller-Rudin type) were obtained by bubbling the phosphatidylcholine solution towards the hole with a potential of – 60 mV across it, the recording time – 20 s (adapted from [25], copyright University of Wrocław, Poland, 2006)

дило к значительным концентрационно-зависимым изменениям значений сопротивления БЛМ (рис. 3).

Ранее было показано, что взаимодействие катионного ПАМАМ дендримера 7-й генерации с липосомами может вызывать формирование пор [26–28], а введение катионного ПАМАМ дендримера 4-й генерации в смесь липидов при формировании модельных мембран может индуцировать нарушения в бислое, включая формирование гексагональной фазы [29]. В некоторых случаях катионные ПАМАМ дендримеры больших генераций (от 7-й и выше) были способны отрывать липиды от бислоя и формировать дендример-липидные везикулы [30], что могло привести к изменению проводимости липидного бислоя.

Известно, что проводимость немодифицированной БЛМ определяется индуцируемыми метастабильными единичными порами с временем жизни ~ 3 мс [25] и размером пор $\sim 0,6$ нм [31]. Непосредственно перед срывом эти поры стабилизируются и увеличиваются в размерах, формируя ионные каналы [26–28]. В наших экспериментах в случае немодифицированных БЛМ появление метастабильных ионных пор наблюдалось в 32 % случаев. Добавление катионного дендримера приводило к выраженному снижению количества метастабильных одиночных пор, а при концентрации дендримера более 10 мкМ формирования ионных пор не наблюдалось. Таким образом, взаимодействие катионного дендримера с БЛМ приводит к резкому снижению сопротивления мембраны, исчезновению спонтанных одиночных пор и увеличению напряжения срыва мембраны вследствие встраивания дендримера в БЛМ. Обнаруженное в экспериментах снижение времени жизни БЛМ в присутствии дендримера также указывает на формирование агрегатов дендример–БЛМ, т. е. пор [26–28]. По-видимому, электростатические силы играют главную роль во взаимодействии дендример–БЛМ, поэтому нейтральный и анионный дендримеры не взаимодействуют с БЛМ (при pH выше 6,5 ФХ находится преимущественно в форме LOH^-) [32, 33].

Как известно, эритроцит не имеет ядра и представляет собой удобную систему для изучения взаимодействия мембран с различными веществами [34]. Мембраны эритроцитов человека состоят из липидного бислоя, связывающего в разной степени «плавающие» в бислое белки. Белки и липиды составляют основную часть сухой массы эритроцитарных мембран; доля углеводов обычно не превышает 10 %, причем они связаны либо с молекулами белка (гликопротеинами), либо с молекулами липидов (гликолипидами) [34].

Нами изучено взаимодействие катионных ПАМАМ дендримеров 3, 4 и 6-й генераций с эритроцитами человека методом анализа их степени гемолиза [35]. На рис. 4 представлена зависи-

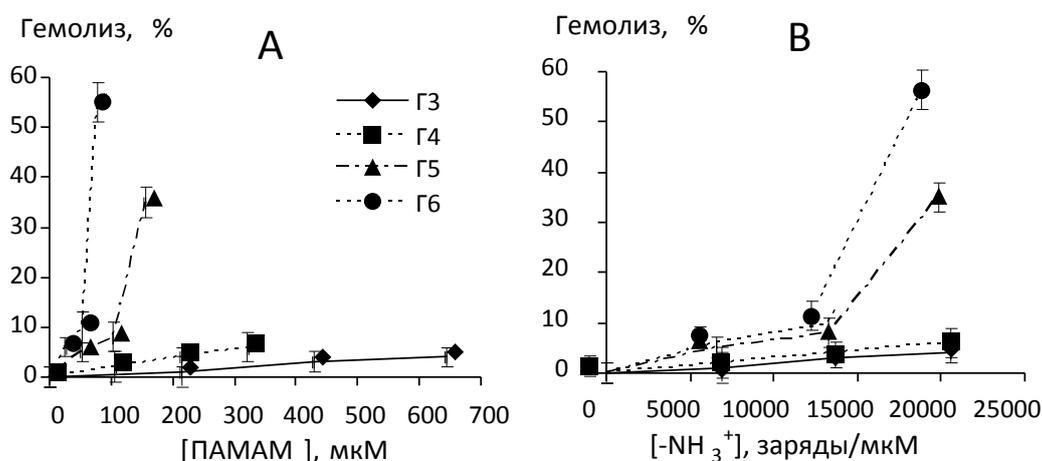


Рис. 4. Зависимость процентного содержания вышедшего из эритроцитов в супернатант гемоглобина после их инкубации с катионными ПАМАМ- NH_2 дендримерами 3–6-й генераций от концентрации наночастиц (A) и числа поверхностных катионных зарядов (B) (адаптировано из статьи [35])

Fig. 4. Dependence of RBC hemolysis on molar concentrations of cationic PAMAM- NH_2 G3–G6 dendrimers (A) and number of nanoparticles surface charges (B) (adapted from [35], copyright Elsevier B. V., 2013)

мость процентного содержания вышедшего из эритроцитов в супернатант гемоглобина от катионных дендримеров при инкубации клеток с дендримерами в течение 2 ч.

На рис. 4, *A* представлена зависимость степени гемолиза эритроцитов от молярной концентрации катионных дендримеров, а на рис. 4, *B* – те же данные, но в пересчете на число катионных зарядов в растворе, рассчитанное как произведение молярной концентрации дендримера на число его катионных зарядов, приходящихся на одну молекулу. Как видно из рис. 4, наблюдалась зависимость степени гемолиза эритроцитов от генерации катионного дендримера.

Пересчет молярных концентраций дендримеров на количество катионных зарядов в растворе (рис. 4, *B*) позволил выявить интересную закономерность – гематотоксичность дендримеров больших генераций зависела не только от числа поверхностных катионных зарядов. Принято считать, что цитотоксичность катионных дендримеров определяется их поверхностными катионными зарядами [24, 36, 37]. Чем больше число поверхностных зарядов, тем сильнее дендример взаимодействует с мембраной и тем сильнее его цитотоксическое действие на клетки [34–36]. Однако, как следует из рис. 4, *B*, при одинаковом числе зарядов в растворе катионные ПАМAM дендримеры больших генераций (4-й и 6-й) более токсичны, чем дендримеры малых генераций (3-й и 4-й).

Мы предположили, что помимо катионного заряда цитотоксичность больших генераций дендримеров определяется степенью их гидрофобности. Известно, что низкие генерации дендримеров имеют открытую, подвижную и асимметричную структуру, которая при увеличении генерации становится более глобулярной и плотно упакованной [38]. При этом в больших генерациях дендримеров формируются внутренние гидрофобные области, способные переносить гидрофобные молекулы [39]. Именно наличие таких областей может быть дополнительным фактором гематотоксичности дендримеров больших генераций.

С целью проверки данного предположения мы сравнили влияние на гемолиз эритроцитов двух катионных ПАМAM дендримеров 4-й генерации. В первом дендримере было обычное число катионных групп – 64 поверхностные аминогруппы. Во втором дендримере 25 % аминогрупп были заменены гидрофобными неполярными ацильными группами – C_{12} , а 75 % остались катионными аминогруппами – ПАМAM- $NH_2^{75\%}-C_{12}^{25\%}$. Предполагалось, что снижение количества аминогрупп будет снижать гематотоксичность катионного дендримера 4-й генерации, однако

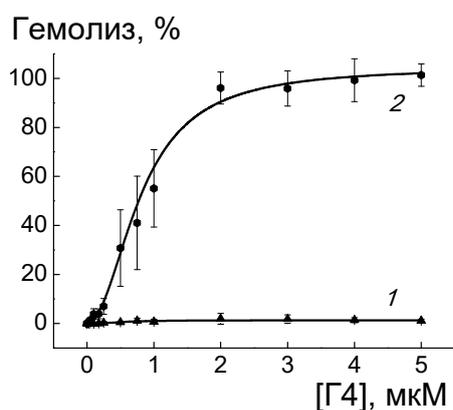


Рис. 5. Зависимость процентного содержания вышедшего из эритроцитов в супернатант гемоглобина после их инкубации с ПАМAM дендримерами 4-й генерации: полностью катионными (1) и частично катионными с 75 % NH_2 групп и 25 % C_{12} групп (2) (адаптировано из статьи [35])

Fig. 5. Dependence of RBC hemolysis on concentration of cationic ПАМAM- NH_2 (1) and ПАМAM- $NH_2^{75\%}-C_{12}^{25\%}$ (2) G4 dendrimers (adapted from [35], copyright Elsevier B. V., 2013)

результаты показали совершенно иную картину: замена 25 % аминогрупп гидрофобными группами резко повышала способность данного дендримера вызывать гемолиз эритроцитов (рис. 5). По-видимому, значительное усиление такого эффекта связано с резким возрастанием способности дендримера ПАМAM- $NH_2^{75\%}-C_{12}^{25\%}$ встраиваться в мембрану эритроцитов. Подобным эффектом обладают многие гидрофобные соединения, в том числе лекарства, зонды, токсины и др. [34].

Полученные нами результаты, свидетельствующие о важности гидрофобных внутренних областей дендримеров при их взаимодействии с клетками, были подтверждены в ходе наших дальнейших исследований по изучению степени трансфекции генетического материала в клетки.

Самособирающиеся наноструктуры, полученные из природных и синтетических амфифилов, служат имитацией биологических мембран и обеспечивают доставку лекарств, белков, генов и агентов визуализации. И все же собрать точное молекулярное устройство с учетом этих функций достаточно сложно. В настоящее время для биологии и медицины предложены амфифильные Янус дендримеры и дендроны, полученные путем простого связывания специально подобранных гидрофильных и гидрофобных разветвленных

сегментов. Данные структуры способны формировать в воде различные наноструктуры, включая дендримерсомы, кубосомы, диски, трубчатые везикулы и спиральные ленты. Дендримерсомы сочетают в себе стабильность и механическую прочность, достигаемые благодаря полимерсомам, с биологической функцией стабилизированных фосфолипидных липосом, а также превосходную однородность размера, легкость образования и химическую функционализацию. Эта модульная стратегия синтеза обеспечивает доступ к систематической настройке молекулярной структуры и самособирающейся архитектуры [40–42].

На сегодняшний день самосборка амфифильных дендримеров и дендронов полностью не исследована, поэтому важно понять ее механизм и зависимость от молекулярной структуры составляющих. Для этого авторы [43] исследовали агрегационное поведение в воде амфифильных дендримеров 2-й генерации с использованием экспериментальных и вычислительных методов. Диспергирование амфифильных дендримеров в воде проводили методами тонкопленочной гидратации и инъекции этанола. Полученные сборки были охарактеризованы методами динамического рассеяния света, конфокальной микроскопии и атомно-силовой микроскопии. Кроме того, было выполнено моделирование молекулярной динамики для изучения механизма агрегации амфифильных дендримеров. Установлено появление дендримерсом в воде без формирования бислоев. Результаты этого исследования устанавливают связь между молекулярной структурой амфифильных дендримеров и свойствами их агрегатов в воде [43].

В работе [44] изучена способность амфифильных дендримеров, формирующих дендримерсомы, инкапсулировать высокие концентрации гидрофобных компонентов, при этом более эффективно, чем коммерчески доступные липосомы, собранные из фосфолипидных компонентов. Многослойные луковичные дендримерсомы демонстрировали особенно высокую способность загружать низкомолекулярные соединения и даже свернутые белки. Совместная сборка амфифильных дендримеров с металл-хелатными лигандами генерирует дендримерсомы, которые избирательно локализуют свернутые белки на своей периферии ориентированным образом. Также авторами продемонстрирована модульная стратегия прикрепления нуклеиновых кислот к поверхности дендримерсом [44].

В работе [45] амфифильные полифениленовые дендримеры с четко выраженными липофильными и положительно или отрицательно заряженными поверхностными группами были адсорбированы на липосомы и было изучено их влияние на адсорбцию белков в плазме крови. Установлено, что «корона» из амфифильных полифениленовых дендримеров уменьшала связывание липосомами определенных опсонинов и увеличивала адсорбцию белков, контролирующего точное поглощение [45]. Эти же авторы провели серию исследований по изучению возможности использования амфифильных дендронов в качестве единиц биораспознавания вирусов [46]. Обнаружено, что поверхностные группы амфифильных дендримеров могут связываться с аденовирусом 5 (Ad5), который является распространенным вектором в генной терапии. Комплексы Ad5/дендрон показали высокую эффективность генной трансдукции в клетках, отрицательных по рецептору аденовируса Коксаки (CAR). Поверхности, покрытые этими дендронами, были проанализированы на предмет их связывающей способности с белками крови, что важно для прогнозирования их характеристик в кровотоке. Таким образом, авторами разработана новая платформа для введения биоактивных групп на поверхность Ad5 без химического изменения вирусных частиц [46].

Мажораль с соавт. [47] разработали и синтезировали несколько семейств новых амфифильных флуоресцентных фосфорных мицелл на основе дендронов, демонстрирующих соответствующую антипролиферативную активность, для использования в области тераностической наномедицины. Было создано 12 амфифильных фосфорных дендронов, несущих 10 протонированных циклических аминокислотных групп (1-я генерация) или 20 протонированных аминокислотных групп (2-я генерация) и 1 гидрофобную цепь с 1 флуорофорным фрагментом. Установлено, что амфифильные мицеллы дендронов обладают способностью агрегировать в растворе за счет гидрофильных/гидрофобных взаимодействий, что способствует образованию полимерных мицелл. Эти мицеллы на основе дендронов проявляли антипролиферативную активность (от умеренной до высокой) в отношении ряда линий опухолевых клеток [46].

Наиболее широкое применение дендримеры и амфифильные дендроны нашли в медицине в качестве средств для улучшенной доставки контрастных агентов, лекарственных препаратов и генетического материала внутрь клеток [48]. Это обусловлено их физико-химическими и биологическими свойствами (монодисперсностью, высокой растворимостью в воде, наличием множества функциональных групп на поверхности), которые позволяют связывать различные соединения, а также их биосовместимостью и способностью к саморазрушению после доставки соответствующего вещества [49]. При этом гидрофобные соединения встраиваются во внутренние полости между ветвями дендримера или дендрона, что повышает их циркуляцию в крови с последующим высвобождением. В качестве примера можно привести малорастворимый противоопухолевый препарат 10-гидроксикамптотецин, который доставляется в раковые клетки при помощи дендримеров на основе глицерола и сукцината [50]. Возможно также ковалентное присоединение препаратов к поверхностным группам молекулы дендрона или дендримера с последующим контролируемым высвобождением, которое зависит в том числе и от химической природы молекулы-линкера (например, наличие в линкере дисульфидных связей обеспечивает высвобождение препарата в цитоплазме при помощи глутатиона) [48]. В случае с полярными соединениями, вероятнее всего, основным способом связывания для переноса являются электростатические взаимодействия между противоположно заряженными функциональными группами препарата и терминальными группами дендримера или дендрона. Подобным образом, в частности, взаимодействуют отрицательно заряженные нуклеиновые кислоты и полипропилениминные дендримеры с положительно заряженными терминальными группами, в результате чего образуются состоящие из нескольких молекул дендриплексы, которые обеспечивают трансфекцию генов через клеточные мембраны. Такие комплексы обладают рядом преимуществ по сравнению с липосомными или вирусными векторами. Хотя эффективность синтетических векторов, к которым относятся дендримеры и дендроны, ниже, чем у вирусных, они более безопасны и не способны вызывать аллергические реакции [51]. К невирусным векторам относятся также и липосомы, широко используемые в качестве векторов в настоящее время. Их получение, как правило, дешевле и проще, чем получение дендримеров в синтезе, а кроме того, они имеют лучшую биосовместимость, при этом дендримеры выигрывают у липосом в монодисперсности, стабильности и вариативности благодаря возможности модифицировать как терминальные группы, так и ветви молекул [49].

Кроме того, дендримеры и дендроны способны взаимодействовать с биологическими мембранами, поэтому их можно использовать не только для переноса веществ внутрь клеток, но и в качестве антибактериальных средств. В данном случае часто используются дендримеры или дендроны, функционализированные соединениями азота; специальные модификации терминальных групп обеспечивают разрушительное действие на мембраны прокариот, при этом для животных клеток они малотоксичны [52, 53].

В настоящее время на основе дендримеров создан и продается коммерческий препарат VivaGel, направленный против вирусных инфекций (используется в Австралии и Японии с эффективностью 99,9 % против ВИЧ [54]), и проводятся дальнейшие исследования по коммерциализации других препаратов на основе данных структур.

В лаборатории нанобиотехнологий Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси в настоящее время ведутся работы по изучению возможности применения амфифильных дендронов, синтезированных группой профессора Мажорала, в качестве векторов для переноса малых РНК в клетки. Исследуется также цитотоксичность этих структур и их взаимодействие с белками, нуклеиновыми кислотами и клетками [55].

Таким образом, изучение механизмов взаимодействия дендримеров и амфифильных дендронов с липосомами является важным этапом оценки возможности их применения в медицине в качестве переносчиков лекарственных препаратов и генетического материала в клетки и органы. Полученные данные позволяют оценить особенности вхождения дендримеров и амфифильных дендронов в клетки.

Благодарности. Авторы выражают благодарность кандидату технических наук В. А. Лобану и кандидату технических наук А. И. Драпезе за совместные эксперименты с бислойными липидными мембранами. Данная работа поддержана Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь (ГКНТ РБ) и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (БРФФИ), гранты Б20СЛКГ-002, Б18ТЮБ-001, Б21КОРГ-001; Польским национальным агентством по академическому обмену, грант EUROPARTNER, PPI/APM/2018/1/00007/U/001.

Acknowledgements. Authors are thankful to V. A. Loban and A. I. Drapeza for help in carrying out experiments with bilayer lipid membranes. This work was supported by the State Committee on Science and Technology of the Republic of Belarus (SCST) and Belarussian Republican Foundation for Fundamental Research (BRFFR), grants Б20СЛКГ-002, Б18ТЮБ-001, Б21КОРГ-001; by the Polish National Agency for Academic Exchange, grant EUROPARTNER, No. PPI/APM/2018/1/00007/U/001.

Список использованных источников

1. Zhang, Z. Y. High-generation polycationic dendrimers are unusually effective at disrupting anionic vesicles: membrane bending model / Z. Y. Zhang, B. D. Smith // *Bioconjug. Chem.* – 2000. – Vol. 11, N 6. – P. 805–814. <https://doi.org/10.1021/bc000018z>
2. Karoonuthaisiri, N. Destabilization of fatty acid-containing liposomes by polyamidoamine dendrimers / N. Karoonuthaisiri, K. Titiyevskiy, J. Thomas // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2003. – Vol. 27, N 4. – P. 365–375. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(02\)00115-7](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(02)00115-7)
3. Characterization of starburst dendrimers and vesicle solutions and their interactions by CW- and Pulsed-EPR, TEM, and dynamic light scattering / M. Ottaviani [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* – 1998. – Vol. 102, N 31. – P. 6029–6039. <https://doi.org/10.1021/jp980715c>
4. Structural modifications of DMPC vesicles upon interaction with Poly(amidoamine) dendrimers studied by CW-electron paramagnetic resonance and electron spin echo techniques / M. F. Ottaviani [et al.] // *Langmuir.* – 1999. – Vol. 15, N 6. – P. 1973–1980. <https://doi.org/10.1021/la9803068>
5. A TEM and EPR Investigation of the competitive binding of uranyl ions to starburst dendrimers and liposomes: potential use of dendrimers as uranyl ion sponges / M. F. Ottaviani [et al.] // *Langmuir.* – 2000. – Vol. 16, N 19. – P. 7368–7372. <https://doi.org/10.1021/la000355w>
6. Direct observation of lipid bilayer disruption by poly(amidoamine) dendrimers / A. Mecke [et al.] // *Chem. Phys. Lipids.* – 2004. – Vol. 132, N 1. – P. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2004.09.001>
7. Lipid bilayer disruption by polycationic polymers: the roles of size and chemical functional group / A. Mecke [et al.] // *Langmuir.* – 2005. – Vol. 21, N 23. – P. 10348–10354. <https://doi.org/10.1021/la050629l>
8. Interaction of Poly(amidoamine) dendrimers with supported lipid bilayers and cells: hole formation and the relation to transport / S. Hong [et al.] // *Bioconju. Chem.* – 2004. – Vol. 15, N 4. – P. 774–782. <https://doi.org/10.1021/bc049962b>
9. Physical interactions of nanoparticles with biological membranes: the observation of nanoscale hole formation / S. Hong [et al.] // *J. Chem. Health Safety.* – 2006. – Vol. 13, N 3. – P. 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.chs.2005.09.004>
10. Parimi, S. PAMAM dendrimer interactions with supported lipid bilayers: a kinetic and mechanistic investigation / S. Parimi, T. Barnes, C. Prestidge // *Langmuir.* – 2008. – Vol. 24. – P. 13532–13539. <https://doi.org/10.1021/la8022858>
11. Stoichiometry and structure of poly(amidoamine) dendrimer-lipid complexes / C. V. Kelly [et al.] // *ACS Nano.* – 2009. – Vol. 3, N 7. – P. 1886–1896. <https://doi.org/10.1021/nn900173e>
12. Klajnert, B. PAMAM dendrimers and model membranes: differential scanning calorimetry studies / B. Klajnert, R. M. Epanand // *Int. J. Pharm.* – 2005. – Vol. 305, N 1–2. – P. 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.08.015>
13. DSC studies on interactions between low molecular mass peptide dendrimers and model lipid membranes / B. Klajnert [et al.] // *Int. J. Pharmaceutics.* – 2006. – Vol. 327, N 1–2. – P. 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.07.018>
14. Effect of anionic and cationic polyamidoamine (PAMAM) dendrimers on a model lipid membrane / D. Lombardo [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – Vol. 1858, N 11. – P. 2769–2777. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.08.001>
15. Poly(amidoamine) dendrimers on lipid bilayers II: effects of bilayer phase and dendrimer termination / C. V. Kelly [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* – 2008. – Vol. 112, N 31. – P. 9346–9353. <https://doi.org/10.1021/jp8013783>
16. Antimicrobial activities and structures of two linear cationic peptide families with various amphipathic beta-sheet and alpha-helical potentials / Y. Jin [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2005. – Vol. 49, N 12. – P. 4957–4964. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.12.4957-4964.2005>
17. Immobilization of liposomes in nanostructured layer-by-layer films containing dendrimer / M. L. Moraes [et al.] // *Materials Sci. Eng. C.* – 2008. – Vol. 28, N 4. – P. 467–471. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.04.017>
18. Lai, J. Single-cell measurements of polyamidoamine dendrimer binding / J. Lai, C. Yuan, J. Thomas // *Ann. Biomed. Eng.* – 2002. – Vol. 30. – P. 409–416. <https://doi.org/10.1114/1.1470180>
19. A novel dendrimeric “Glue” for adhesion of phosphatidyl choline-based liposomes / Z. Sideratou [et al.] // *Langmuir.* – 2002. – Vol. 18, N 13. – P. 5036–5039. <https://doi.org/10.1021/la020150i>
20. Interaction of functional dendrimers with multilamellar liposomes: design of a model system for studying drug delivery / A. Pantos [et al.] // *Langmuir.* – 2005. – Vol. 21, N 16. – P. 7483–7490. <https://doi.org/10.1021/la0510331>
21. Interactive transport of guanidinylated poly(propylene imine)-based dendrimers through liposomal and cellular membranes / I. Tsogas [et al.] // *ChemBioChem.* – 2007. – Vol. 8. – P. 1865–1871. <https://doi.org/10.1002/cbic.200700289>

22. Physico-chemical studies on the interaction of dendrimers with lipid bilayers. 1. Effect of dendrimer generation and liposome surface charge / B. Roy // *J. Oleo Sci.* – 2014. – Vol. 63, N 11. – P. 1185–1193. <https://doi.org/10.5650/jos.ess14081>
23. Esfand, R. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications / R. Esfand, D. A. Tomalia // *Drug. Discov. Today.* – 2001. – Vol. 6, N 8. – P. 427–436. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(01\)01757-3](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(01)01757-3)
24. Cloninger, M. J. Biological applications of dendrimers / M. J. Cloninger // *Curr. Op. Chem. Biol.* – 2002. – Vol. 6, N 6. – P. 742–748. [https://doi.org/10.1016/s1367-5931\(02\)00400-3](https://doi.org/10.1016/s1367-5931(02)00400-3)
25. The breakdown of bilayer lipid membranes by dendrimers / D. Shcharbin [et al.] // *Cell Mol. Biol. Lett.* – 2006. – Vol. 11, N 2. – P. 242–248. <https://doi.org/10.2478/s11658-006-0018-2>
26. Single ionic channels and macroscopic conductivity of bilayer lipid membranes / S. N. Cherenkevich [et al.] // *Biophysics.* – 1989. – Vol. 34, N 1. – P. 45–48.
27. Weaver, J. C. Theory of electroporation : a review / J. C. Weaver, Y. A. Chizmadzhev // *Bioelectrochem. Bioenerg.* – 1996. – Vol. 41, N 2. – P. 135–160. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05062-3](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05062-3)
28. Direct observation of lipid bilayer disruption by poly(amidoamine) dendrimers / A. Mecke [et al.] // *Chem. Phys. Lipids.* – 2004. – Vol. 132, N 1. – P. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2004.09.001>
29. Klajnert, B. PAMAM dendrimers and model membranes: differential scanning calorimetry studies / B. Klajnert, R. M. Epanand // *Int. J. Pharm.* – 2005. – Vol. 305, N 1–2. – P. 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.08.015>
30. Zhang, Z. Y. High-generation polycationic dendrimers are unusually effective at disrupting anionic vesicles: membrane bending model / Z. Y. Zhang, B. D. Smith // *Bioconjug. Chem.* – 2000. – Vol. 11, N 6. – P. 805–814. <https://doi.org/10.1021/bc000018z>
31. Kakorin, S. Ionic conductivity of electroporated lipid bilayer membranes / S. Kakorin, E. Neumann // *Bioelectrochemistry.* – 2002. – Vol. 56, N 1–2. – P. 163–166. [https://doi.org/10.1016/s1567-5394\(02\)00040-3](https://doi.org/10.1016/s1567-5394(02)00040-3)
32. Brzozowska, I. The influence of pH on phosphatidylcholine monolayer at the air/aqueous solution interface / I. Brzozowska, Z. A. Figaszewski // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2003. – Vol. 27, N 4. – P. 303–309. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(02\)00095-4](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(02)00095-4)
33. Quinn, P. The pH dependence of calcium adsorption onto anionic phospholipid monolayers / P. Quinn, R. M. C. Dawson // *Chem. Phys. Lipids.* – 1972. – Vol. 8, N 1. – P. 1–9. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(72\)90038-2](https://doi.org/10.1016/0009-3084(72)90038-2)
34. Черницкий, Е. А. Структура и функции эритроцитарных мембран / Е. А. Черницкий, А. В. Воробей. – Минск : Наука и техника, 1981. – 216 с.
35. Contribution of hydrophobicity, DNA and proteins to the cytotoxicity of cationic PAMAM dendrimers / I. Halets [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2013. – Vol. 454, N 1. – P. 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.06.061>
36. Cationic PAMAM dendrimers aggressively initiate blood clot formation / C. F. Jones [et al.] // *ACS Nano.* – 2012. – Vol. 6, N 11. – P. 9900–9910. <https://doi.org/10.1021/nn303472r>
37. Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge / K. Jain [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2010. – Vol. 394, N 1–2. – P. 122–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.027>
38. Synthesis and characterization of linear, hyperbranched, and dendrimer-like polymers constituted of the same repeating unit / S. Merino [et al.] // *Chemistry.* – 2001. – Vol. 7. – P. 3095–3105. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20010716\)7:14<3095::aid-chem3095>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20010716)7:14<3095::aid-chem3095>3.0.co;2-s)
39. Tomalia, D. A. A systematic framework and nanoperiodic concept for unifying nanoscience: hard/soft nanoelements, superatoms, meta-atoms, new emerging properties, periodic property patterns, and predictive mendelev-like nanoperiodic tables / D. A. Tomalia, S. N. Khanna // *Chem. Rev.* – 2016. – Vol. 116, N 4. – P. 2705–2774. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00367>
40. Amphiphilic dendrimers: novel self-assembling vectors for efficient gene delivery / D. Joester [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2003. – Vol. 42, N 13. – P. 1486–1490. <https://doi.org/10.1002/anie.200250284>
41. Self-assembly of Janus dendrimers into uniform dendrimersomes and other complex architectures / V. Percec [et al.] // *Science.* – 2010. – Vol. 328, N 5981. – P. 1009–1014. <https://doi.org/10.1126/science.1185547>
42. Sherman, S. E. Mimicking complex biological membranes and their programmable glycan ligands with dendrimersomes and glycodendrimersomes / S. E. Sherman, Q. Xiao, V. Percec // *Chem Rev.* – 2017. – Vol. 117, N 9. – P. 6538–6631. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00097>
43. Self-assembly behavior of amphiphilic janus dendrimers in water: a combined experimental and coarse-grained molecular dynamics simulation approach / M. E. Elizondo-García [et al.] // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23, N 4. – P. 969. <https://doi.org/10.3390/molecules23040969>
44. Encapsulation of hydrophobic components in dendrimersomes and decoration of their surface with proteins and nucleic acids / P. Torre [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 2019. – Vol. 116, N 31. – P. 15378–15385. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904868116>
45. Amphiphilic dendrimers control protein binding and corona formation on liposome nanocarriers / J. Wagner [et al.] // *Chem. Commun. (Camb.).* – 2020. – Vol. 56, N 61. – P. 8663–8666. <https://doi.org/10.1039/d0cc02486d>
46. Amphiphilic polyphenylene dendron conjugates for surface remodeling of Adenovirus 5 / J. Wagner [et al.] // *Angew. Chem.* – 2020. – Vol. 59, N 14. – P. 5712–5720. <https://doi.org/10.1002/anie.201913708>
47. Facile synthesis of amphiphilic fluorescent phosphorus dendron-based micelles as antiproliferative agents: first investigations / J. Qiu [et al.] // *Bioconjug. Chem.* – 2021. – Vol. 32, N 2. – P. 339–349. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.0c00716>

48. Dendrimers in medicine: therapeutic concepts and pharmaceutical challenges / L. P. Wu [et al.] // *Bioconjug. Chem.* – 2015. – Vol. 26, N 7. – P. 1198–1211. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00031>
49. Pérez-Herrero, E. Advanced targeted therapies in cancer: drug nanocarriers, the future of chemotherapy / E. Pérez-Herrero, A. Fernández-Medarde // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* – 2015. – Vol. 93. – P. 52–79. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018>
50. Dendrimer-encapsulated camptothecins: increased solubility, cellular uptake, and cellular retention affords enhanced anticancer activity *in vitro* / M. T. Morgan [et al.] // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66, N 24. – P. 11913–11921. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2066>
51. Dufès, C. Dendrimers in gene delivery / C. Dufès, I. F. Uchegbu, A. G. Schätzlein // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2005. – Vol. 57, N 15. – P. 2177–2202. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.09.017>
52. Quaternary ammonium functionalized poly(propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: structure-activity studies / C. Z. Chen [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2000. – Vol. 1, N 3. – P. 473–480. <https://doi.org/10.1021/bm0055495>
53. Nitric oxide-releasing dendrimers as antibacterial agents / B. Sun [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2012. – Vol. 13, N 10. – P. 3343–3354. <https://doi.org/10.1021/bm301109c>
54. Emerging concepts in dendrimer-based nanomedicine: from design principles to clinical applications / R. M. Kannan [et al.] // *J. Int. Med.* – 2014. – Vol. 276, N 6. – P. 579–617. <https://doi.org/10.1111/joim.12280>
55. Comparison of the effects of dendrimer, micelle and silver nanoparticles on phospholipase A₂ structure / M. Terehova [et al.] // *J. Biotechnol.* – 2021. – Vol. 331. – P. 48–52. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.03.009>

References

1. Zhang Z. Y., Smith B. D. High-generation polycationic dendrimers are unusually effective at disrupting anionic vesicles: membrane bending model. *Bioconjugate Chemistry*, 2000, vol. 11, no. 6, pp. 805–814. <https://doi.org/10.1021/bc000018z>
2. Karoonuthaisiri N., Titiyevskiy K., Thomas J. Destabilization of fatty acid-containing liposomes by polyamidoamine dendrimers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003, vol. 27, no. 4, pp. 365–375. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(02\)00115-7](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(02)00115-7)
3. Ottaviani M., Matteini P., Brustolon M., Turro N., Jockusch S., Tomalia D. Characterization of starburst dendrimers and vesicle solutions and their interactions by CW- and Pulsed-EPR, TEM, and dynamic light scattering. *Journal of Physical Chemistry B*, 1998, vol. 102, no. 31, pp. 6029–6039. <https://doi.org/10.1021/jp980715c>
4. Ottaviani M. F., Daddi R., Brustolon M., Turro N. J., Tomalia D. A. Structural modifications of DMPC vesicles upon interaction with poly(amidoamine) dendrimers studied by CW-electron paramagnetic resonance and electron spin echo techniques. *Langmuir*, 1999, vol. 15, no. 6, pp. 1973–1980. <https://doi.org/10.1021/la9803068>
5. Ottaviani M. F., Favuzza P., Bigazzi M., Turro N. J., Jockusch S., Tomalia D. A. A TEM and EPR investigation of the competitive binding of uranyl ions to starburst dendrimers and liposomes: potential use of dendrimers as uranyl ion sponges. *Langmuir*, 2000, vol. 16, no. 19, pp. 7368–7372. <https://doi.org/10.1021/la000355w>
6. Mecke A., Uppuluri S., Sassanella T. M., Lee D.-K., Ramamoorthy A., Baker J. R., Orr B. G., Banaszak Holl M. M. Direct observation of lipid bilayer disruption by poly(amidoamine) dendrimers. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2004, vol. 132, no. 1, pp. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2004.09.001>
7. Mecke A., Majoros I. J., Patri A. K., Baker J. R. J., Holl M. M., Orr B. G. Lipid bilayer disruption by polycationic polymers: the roles of size and chemical functional group. *Langmuir*, 2005, vol. 21, no. 23, pp. 10348–10354. <https://doi.org/10.1021/la050629l>
8. Hong S., Bielinska A. U., Mecke A., Keszler B., Beals J. L., Shi X., Balogh L., Orr B. G., Baker J. R. J., Banaszak Holl M. M. Interaction of poly(amidoamine) dendrimers with supported lipid bilayers and cells: hole formation and the relation to transport. *Bioconjugate Chemistry*, 2004, vol. 15, no. 4, pp. 774–782. <https://doi.org/10.1021/bc049962b>
9. Hong S., Hessler J. A., Banaszak Holl M. M., Leroueil P., Mecke A., Orr B. G. Physical interactions of nanoparticles with biological membranes: the observation of nanoscale hole formation. *Journal of Chemical Health and Safety*, 2006, vol. 13, no. 3, pp. 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.chs.2005.09.004>
10. Parimi S., Barnes T., Prestidge C. PAMAM dendrimer interactions with supported lipid bilayers: a kinetic and mechanistic investigation. *Langmuir*, 2008, vol. 24, pp. 13532–13539. <https://doi.org/10.1021/la8022858>
11. Kelly C. V., Liroff M. G., Triplett L. D., Leroueil P. R., Mullen D. G., Wallace J. M., Meshinchi S., Baker J. R., Orr B. G., Banaszak Holl M. M. Stoichiometry and structure of poly(amidoamine) dendrimer-lipid complexes. *ACS Nano*, 2009, vol. 3, no. 7, pp. 1886–1896. <https://doi.org/10.1021/nn900173e>
12. Klajnert B., Epan R. M. PAMAM dendrimers and model membranes: differential scanning calorimetry studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 2005, vol. 305, no. 1–2, pp. 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.08.015>
13. Klajnert B., Janiszewska J., Urbanczyk-Lipkowska Z., Bryszewska M., Epan R. M. DSC studies on interactions between low molecular mass peptide dendrimers and model lipid membranes. *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, vol. 327, no. 1–2, pp. 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.07.018>
14. Lombardo D., Calandra P., Bellocco E., Laganà G., Barreca D., Magazù S., Wanderlingh U., Kiselev M. A. Effect of anionic and cationic polyamidoamine (PAMAM) dendrimers on a model lipid membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, vol. 1858, no. 11, pp. 2769–2777. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.08.001>

15. Kelly C. V., Leroueil P. R., Orr B. G., Holl M. M. B., Andricioaei I. Poly(amidoamine) dendrimers on lipid bilayers II: Effects of bilayer phase and dendrimer termination. *Journal of Physical Chemistry. B*, 2008, vol. 112, no. 31, pp. 9346–9353. <https://doi.org/10.1021/jp8013783>
16. Jin Y., Hammer J., Pate M., Zhang Y., Zhu F., Zmuda E., Blazyk J. Antimicrobial activities and structures of two linear cationic peptide families with various amphipathic beta-sheet and alpha-helical potentials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, vol. 49, no. 12, pp. 4957–4964. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.12.4957-4964.2005>
17. Moraes M. L., Baptista M. S., Itri R., Zucolotto V., Oliveira O. N. Immobilization of liposomes in nanostructured layer-by-layer films containing dendrimers. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic and Supramolecular Systems*, 2008, vol. 28, no. 4, pp. 467–471. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.04.017>
18. Lai J., Yuan C., Thomas J. Single-cell measurements of polyamidoamine dendrimer binding. *Annals of Biomedical Engineering*, 2002, vol. 30, pp. 409–416. <https://doi.org/10.1114/1.1470180>
19. Sideratou Z., Foundis J., Tsiourvas D., Nezis I. P., Papadimas G., Paleos C. M. A novel dendrimeric “Glue” for adhesion of phosphatidyl choline-based liposomes. *Langmuir*, 2002, vol. 18, no. 13, pp. 5036–5039. <https://doi.org/10.1021/la020150i>
20. Pantos A., Tsiourvas D., Nounesis G., Paleos C. M. Interaction of functional dendrimers with multilamellar liposomes: design of a model system for studying drug delivery. *Langmuir*, 2005, vol. 21, no. 16, pp. 7483–7490. <https://doi.org/10.1021/la0510331>
21. Tsogas I., Sideratou Z., Tsiourvas D., Theodossiou T. A., Paleos C. M. Interactive transport of guanidinylated poly(propylene imine)-based dendrimers through liposomal and cellular membranes. *ChemBiochemistry*, 2007, vol. 8, no. 15, pp. 1865–1876. <https://doi.org/10.1002/cbic.200700289>
22. Roy B., Panda A. K., Parimi S., Ametov I., Barnes T., Prestidge C. A. Physico-chemical studies on the interaction of dendrimers with lipid bilayers. 1. Effect of dendrimer generation and liposome surface charge. *Journal of Oleo Science*, 2014, vol. 63, no. 11, pp. 1185–1193. <https://doi.org/10.5650/jos.ess14081>
23. Esfand R., Tomalia D. A. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications. *Drug Discovery Today*, 2001, vol. 6, no. 8, pp. 427–436. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(01\)01757-3](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(01)01757-3)
24. Cloninger M. J. Biological applications of dendrimers. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2002, vol. 6, no. 6, pp. 742–748. [https://doi.org/10.1016/s1367-5931\(02\)00400-3](https://doi.org/10.1016/s1367-5931(02)00400-3)
25. Shcharbin D., Drapeza A., Loban V., Lisichenok A., Bryszewska M. The breakdown of bilayer lipid membranes by dendrimers. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2006, vol. 11, no. 2, pp. 242–248. <https://doi.org/10.2478/s11658-006-0018-2>
26. Cherenkevich S. N., Khmel'nitskii A. I., Drapeza A. I., Bakovich I. A. Single ion channels and macroscopic conductivity of bilayer lipid membranes. *Biophysics*, 1989, vol. 34, no. 1, pp. 45–48.
27. Weaver J. C., Chizmadzhev Y. A. Theory of electroporation : a review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1996, vol. 41, no. 2, pp. 135–160. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05062-3](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05062-3)
28. Mecke A., Uppuluri S., Sassanella T. M., Lee D. K., Ramamoorthy A., Baker J. R. Jr., Orr B. G., Banaszak Holl M. M. Direct observation of lipid bilayer disruption by poly(amidoamine) dendrimers. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2004, vol. 132, no. 1, pp. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2004.09.001>
29. Klajnert B., Epand R. M. PAMAM dendrimers and model membranes: differential scanning calorimetry studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 2005, vol. 305, no. 1–2, pp. 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.08.015>
30. Zhang Z. Y., Smith B. D. High-generation polycationic dendrimers are unusually effective at disrupting anionic vesicles: membrane bending model. *Bioconjugate Chemistry*, 2000, vol. 11, no. 6, pp. 805–814. <https://doi.org/10.1021/bc000018z>
31. Kakorin S., Neumann E. Ionic conductivity of electroporated lipid bilayer membranes. *Bioelectrochemistry*, 2002, vol. 56, no. 1–2, pp. 163–166. [https://doi.org/10.1016/s1567-5394\(02\)00040-3](https://doi.org/10.1016/s1567-5394(02)00040-3)
32. Brzozowska I., Figaszewski Z. A. The influence of pH on phosphatidylcholine monolayer at the air/aqueous solution interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003, vol. 27, no. 4, pp. 303–309. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(02\)00095-4](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(02)00095-4)
33. Quinn P., Dawson R. M. C. The pH dependence of calcium adsorption onto anionic phospholipid monolayers. *Chemistry and Physics of Lipids*, 1972, vol. 8, no. 1, pp. 1–9. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(72\)90038-2](https://doi.org/10.1016/0009-3084(72)90038-2)
34. Chernitskii E. A., Vorobei A. V. *Structure and functions of erythrocyte membranes*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1981. 216 p. (in Russian).
35. Halets I., Shcharbin D., Klajnert B., Bryszewska M. Contribution of hydrophobicity, DNA and proteins to the cytotoxicity of cationic PAMAM dendrimers. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, vol. 454, no. 1, pp. 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.06.061>
36. Jones C. F., Campbell R. A., Brooks A. E., Assemi S., Tadjiki S., Thiagarajan G., Mulcock C., Weyrich A. S., Brooks B. D., Ghandehari H., Grainger D. W. Cationic PAMAM dendrimers aggressively initiate blood clot formation. *ACS Nano*, 2012, vol. 6, no. 11, pp. 9900–9910. <https://doi.org/10.1021/nn303472r>
37. Jain K., Kesharwani P., Gupta U., Jain N. K. Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, vol. 394, no. 1–2, pp. 122–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.027>
38. Merino S., Brauge L., Caminade A.M., Majoral J. P., Taton D., Gnanou Y. Synthesis and characterization of linear, hyperbranched, and dendrimer-like polymers constituted of the same repeating unit. *Chemistry*, 2001, vol. 7, no. 14, pp. 3095–3105. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20010716\)7:14<3095::aid-chem3095>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20010716)7:14<3095::aid-chem3095>3.0.co;2-s)

39. Tomalia D. A., Khanna S. N. A systematic framework and nanoporous concept for unifying nanoscience: hard/soft nanoelements, superatoms, meta-atoms, new emerging properties, periodic property patterns, and predictive mendeleev-like nanoporous tables. *Chemical Reviews*, 2016, vol. 116, no. 4, pp. 2705–2774. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00367>
40. Joester D., Losson M., Pugin R., Heinzelmann H., Walter E., Merkle H. P., Diederich F. Amphiphilic dendrimers: novel self-assembling vectors for efficient gene delivery. *Angewandte Chemie International Edition Engl.*, 2003, vol. 42, no. 13, pp. 1486–1490. <https://doi.org/10.1002/anie.200250284>
41. Percec V., Wilson D. A., Leowanawat P., Wilson C. J., Hughes A. D., Kaucher M. S. [et al.]. Self-assembly of Janus dendrimers into uniform dendrimersomes and other complex architectures. *Science*, 2010, vol. 328, no. 5981, pp. 1009–1014. <https://doi.org/10.1126/science.1185547>
42. Sherman S. E., Xiao Q., Percec V. Mimicking complex biological membranes and their programmable glycan ligands with dendrimersomes and glycodendrimersomes. *Chemical Reviews*, 2017, vol. 117, no. 9, pp. 6538–6631. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00097>
43. Elizondo-García M. E., Márquez-Miranda V., Araya-Durán I., Valencia-Gallegos J. A., González-Nilo F. D. Self-assembly behavior of amphiphilic janus dendrimers in water: a combined experimental and coarse-grained molecular dynamics simulation approach. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 4, p. 969. <https://doi.org/10.3390/molecules23040969>
44. Torre P., Xiao Q., Buzzacchera I., Sherman S. E., Rahimi K., Kostina N. Y. [et al.]. Encapsulation of hydrophobic components in dendrimersomes and decoration of their surface with proteins and nucleic acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, vol. 116, no. 3, pp. 15378–15385. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904868116>
45. Wagner J., Dillenburger M., Simon J., Oberländer J., Landfester K., Mailänder V., Ng D. Y. W., Müllen K., Weil T. Amphiphilic dendrimers control protein binding and corona formation on liposome nanocarriers. *Chemical Communications (Camb.)*, 2020, vol. 56, no. 61, pp. 8663–8666. <https://doi.org/10.1039/d0cc02486d>
46. Wagner J., Li L., Simon J., Krutzke L., Landfester K., Mailänder V., Müllen K., Ng D. Y. W., Wu Y., Weil T. Amphiphilic polyphenylene dendron conjugates for surface remodeling of Adenovirus 5. *Angewandte Chemie*, 2020, vol. 59, no. 14, pp. 5712–5720. <https://doi.org/10.1002/anie.201913708>
47. Qiu J., Chen L., Zhan M., Laurent R., Bignon J., Mignani S., Shi X., Caminade A. M., Majoral J. P. Facile synthesis of amphiphilic fluorescent phosphorus dendron-based micelles as antiproliferative agents: first investigations. *Bioconjugate Chemistry*, 2021, vol. 32, no. 2, pp. 339–349. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.0c00716>
48. Wu L. P., Ficker M., Christensen J. B., Trohopoulos P. N., Moghimi S. M. Dendrimers in medicine: therapeutic concepts and pharmaceutical challenges. *Bioconjugate Chemistry*, 2015, vol. 26, no. 7, pp. 1198–1211. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00031>
49. Pérez-Herrero E., Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2015, vol. 93, pp. 52–79. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018>
50. Morgan M. T., Nakanishi Y., Kroll D. J., Griset A. P., Carnahan M. A., Wathier M., Oberlies N. H., Manikumar G., Wani M. C., Grinstaff M. W. Dendrimer-encapsulated camptothecins: increased solubility, cellular uptake, and cellular retention affords enhanced anticancer activity *in vitro*. *Cancer Research*, 2006, vol. 66, no. 24, pp. 11913–11921. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2066>
51. Dufès C., Uchegbu I. F., Schätzlein A. G. Dendrimers in gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, vol. 57, no. 15, pp. 2177–2202. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.09.017>
52. Chen C. Z., Beck-Tan N. C., Dhurjati P., van Dyk T. K., LaRossa R. A., Cooper S. L. Quaternary ammonium functionalized poly(propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: structure-activity studies. *Biomacromolecules*, 2000, vol. 1, no. 3, pp. 473–480. <https://doi.org/10.1021/bm0055495>
53. Sun B., Slomberg D. L., Chudasama S. L., Lu Y., Schoenfisch M. H. Nitric oxide-releasing dendrimers as antibacterial agents. *Biomacromolecules*, 2012, vol. 13, no. 10, pp. 3343–3354. <https://doi.org/10.1021/bm301109c>
54. Kannan R. M., Nance E., Kannan S., Tomalia D. A. Emerging concepts in dendrimer-based nanomedicine: from design principles to clinical applications. *Journal of Internal Medicine*, 2014, vol. 276, no. 6, pp. 579–617. <https://doi.org/10.1111/joim.12280>
55. Terehova M., Dzmitruk V., Abashkin V., Kirakosyan G., Ghukasyan G., Bryszewska M. [et al.]. Comparison of the effects of dendrimer, micelle and silver nanoparticles on phospholipase A₂ structure. *Journal of Biotechnology*, 2021, vol. 331, pp. 48–52. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.03.009>

Информация об авторах

Терехова Мария Михайловна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: maryterekhova@tut.by

Абашкин Виктор Михайлович – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: viktar.abashkin@gmail.com

Information about the authors

Maria M. Terehova – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: maryterekhova@tut.by

Viktar M. Abashkin – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: viktar.abashkin@gmail.com

Жогла Виктория Андреевна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: victoriya.zhogla@gmail.com

Галец-Буй Инесса Веславовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: inessahalets@gmail.com

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

Брышевска Мария – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Лодзьский университет (141/143, Pomorska, 90-236, г. Лодзь, Польша). E-mail: marbrys@biol.uni.lodz.pl

Ионов Максим – д-р биол. наук, профессор. Лодзьский университет (141/143, Pomorska, 90-236, г. Лодзь, Польша). E-mail: maksim.ionov@biol.uni.lodz.pl

Вацулик Ивета – д-р биол. наук, профессор. Университет имени Я. А. Коменского (Šafárikovo námestie, 6, 81499, Братислава, Словакия). E-mail: iveta.waczulikova@fmph.uniba.sk

Мажораль Жан-Пьер – д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией. Университет Тулузы (205, route de Narbonne, 31077, Toulouse Cedex 4, France). E-mail: majoral@lcc-toulouse.fr

Шербин Дмитрий Григорьевич – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shcharbin@gmail.com

Victoriya A. Zhogla – 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: victoriya.zhogla@gmail.com

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

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

Maria Bryshewska – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. University of Lodz (141/143, Pomorska, 90-236, Lodz, Poland). E-mail: marbrys@biol.uni.lodz.pl

Maksim Ionov – D. Sc. (Biol.), Professor. University of Lodz (141/143, Pomorska, 90-236, Lodz, Poland). E-mail: maksim.ionov@biol.uni.lodz.pl

Iveta Waczulikova – D. Sc. (Biol.), Professor. Comenius University (6, Šafárikovo námestie, 81499, Bratislava, Slovakia). E-mail: iveta.waczulikova@fmph.uniba.sk

Jean-Pierre Majoral – D. Sc. (Chem.), Professor, Head of the Laboratory. University of Toulouse (205, route de Narbonne, 31077, Toulouse Cedex 4, France). E-mail: majoral@lcc-toulouse.fr

Dzmitry G. Shcharbin – D. Sc. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shcharbin@gmail.com